



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS TABASCO

POSTGRADO EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE ESPECIES DE *Phytophthora* ASOCIADAS AL CULTIVO DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) EN EL SURESTE DE MÉXICO

YANSI KARINA RAMOS GRAJALES

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO

2017

La presente tesis, titulada: “**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE ESPECIES DE *Phytophthora* ASOCIADAS AL CULTIVO DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) EN EL SURESTE DE MÉXICO**”, realizada por la alumna: **YANSI KARINA RAMOS GRAJALES**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS

PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

CONSEJO PARTICULAR

Consejero:



Dr. Carlos Fredy Ortiz García

Asesora:



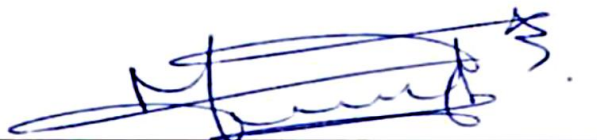
Dra. Consuelo del Carmen Bautista Muñoz

Asesora:



Dra. Luz del Carmen Lagunes Espinoza

Asesor:



Dr. Magdiel Torres de la Cruz

H. Cárdenas, Tabasco, 4 de diciembre de 2017

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE ESPECIES DE
Phytophthora ASOCIADAS AL CULTIVO DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) EN EL
SURESTE DE MÉXICO**

Yansi Karina Ramos Grajales, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2017

RESUMEN

La mancha negra del cacao (MNC) causada por distintas especies de *Phytophthora* es de importancia por las pérdidas considerables que causa a nivel mundial en todos los países productores de cacao. En la presente investigación se realizó un estudio detallado de características morfológicas y moleculares de 31 aislamientos de las plantaciones de cacao del Oomyceto del género *Phytophthora* procedentes de diferentes zonas ecológicas del estado de Tabasco y Chiapas. Los patrones culturales observados de las cepas en estudio como el comportamiento del crecimiento en función de las temperaturas; características morfológicas, dimensiones de los esporangios, clamidosporas y estructuras reproductivas sexuales (anteridio, oogonio y oospora) permitieron clasificar morfológicamente a la mayoría de los aislados pertenecientes a las especies de *P. capsici* de acuerdo a los criterios de Stamps *et al.* (1996) y *P. tropicalis* Aragaki y Uchida (2001) y Martin *et al.*, (2012). La amplificación mediante PCR utilizando cebadores universales (LV1 / LV2 y 350) del gen 18S del ADNr, confirmó la identificación de ambas especies. El estudio filogenético a partir de la secuenciación de fragmentos amplificados del gen 18S mostró la existencia de dos grupos de aislados identificando como *P. capsici* y un grupo de aislados de *P. tropicalis*. Así, se confirma la presencia de *P. capsici* y *P. tropicalis* involucradas en la enfermedad de MNC en México y se hace el primer reporte de la presencia de *P. tropicalis* en los cacaotales de Tabasco y el Norte de Chiapas.

Palabras clave: *Phytophthora*, cacao, gen 18S ADNr, *P. capsici*, *P. tropicalis*.

**MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *Phytophthora*
SPECIES ASSOCIATED WITH COCOA CROP (*Theobroma cacao* L.) IN
SOUTHEASTERN MEXICO**

Yansi Karina Ramos Grajales, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2017

ABSTRACT

The black pod cacao provoked by different species of *Phytophthora* is important because this causes considerable losses worldwide in all the cocoa producing countries. In the present research work, a detailed study of the morphological and molecular characteristics of 31 isolates of the genus *Phytophthora* collected from the cacao plantations located in different ecological zones of the Tabasco and Chiapas State was conducted. The collected isolates were morphologically classified based on cultural characters of colonies, morphological characteristics, dimensions of the sporangia, chlamydospores and sexual reproductive structures (antheridium, oogonium and oospore), belonging to the species of *P. capsici* according to the criteria of Stamps *et al.* (1996) and *P. tropicalis* according to Aragaki and Uchida (2001) and Martin *et al.* (2012). Amplification by PCR using universal primers (LV1 / LV2 and 350) of the 18S ribosomal DNA gene confirmed the identification of both species. The phylogenetic study through the sequencing of amplified fragments of the 18S gene showed the existence either of *P. capsici* or of *P. tropicalis* isolates. Thus, in this research work, the presence of both *P. capsici* and *P. tropicalis* fungi as causal agents of the cocoa black pod disease in Mexico has been confirmed. To our acknowledgement, this is the first report of the presence of *P. tropicalis* in the cacao plantations of Tabasco and the North of Chiapas.

Palabras clave: *Phytophthora*, cacao, 18S ribosomal ADN gene, *P. capsici*, *P. tropicalis*.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**) por el financiamiento económico, para cursar esta Maestría en Ciencias, que tanto me ha servido en mi formación profesional y personal.

Al Colegio de Postgraduados-Campus Tabasco por haberme brindado la oportunidad de realizar mis estudios de Maestría en Ciencias.

Al **Dr. Carlos Fredy Ortiz García** por brindarme sus conocimientos, tiempo y apoyo para el desarrollo de la investigación de tesis de Maestría en Ciencias.

A la **Dra. Consuelo del Carmen Bautista Muñoz** por brindarme sus conocimientos, apoyo y por guiarme hacia un fortalecimiento de mi formación profesional.

A la **Dra. Luz del Carmen Lagunes Espinoza** por su apoyo en la revisión de la tesis de Maestría en Ciencias.

Al **Dr. Magdiel de la Cruz Torres** por su apoyo para la realización de la tesis de Maestría en Ciencias.

A todo el personal académico del CP-Campus Tabasco, por los conocimientos y apoyo brindados para mi formación profesional.

Al personal de servicios académicos del CP-Campus Tabasco por sus atenciones brindadas durante mi estancia.

A mis compañeros y **amigos** durante mi estancia en el CP-Campus Tabasco (**Edna, Lalo, Raúl, Gabriela, Lilia, Nadia, Manuel, Ángel y Rebeca**) por su **amistad**, apoyo y convivencias durante mi estancia en la Maestría en Ciencias.

DEDICATORIA

A **DIOS** por darme la oportunidad de seguir existiendo y poder enfrentar cada momento de dificultad en mi vida.

A **mis padres** Emiliano y María del Rosario por el amor, cariño, apoyo y consejos, por enseñarme que en esta vida todo es posible cuando se quiere y se hace el esfuerzo posible.

A **mis hermanos** Yaneth, Wilber, Fabricio y Eduardo por cada momento de felicidad que hemos podido vivir juntos.

A **mis dos bebés** Erika y Dulce Ruby por ser una motivación para superarme día a día y que durante esta travesía me inspiraron para seguir adelante en mi formación profesional.

A **mi estimado esposo** Erick por todos los momentos de felicidad que juntos hemos compartido durante estos años aún a través de las dificultades **Te amo**.

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
AGRADECIMIENTOS	v
DEDICATORIA	vi
ÍNDICE DE CUADRO.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivo General	4
1.1.2. Objetivos específicos	4
1.2. Hipótesis	4
II. REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1. Generalidades del cacao	5
2.1.2. El cacao en Tabasco y Chiapas	5
2.1.3. Enfermedades del cacao.....	6
2.2. Importancia del género <i>Phytophthora</i>	6
2.2.1. Taxonomía de <i>Phytophthora</i>	6
2.2.2. Ciclo de vida de <i>Phytophthora</i> en cacao.....	7
2.2.3. Características morfológicas asexuales y sexuales de <i>Phytophthora</i>	9
2.2.4. Micelio y formas de colonias	9
2.2.5. Esporangios.....	10
2.2.6. Clamidosporas	10
2.2.7. Oosporas.....	10
2.3. Epidemiología de la mancha negra del cacao	11
2.4. Especies de <i>Phytophthora</i> asociadas a la mancha negra de cacao.....	12
2.5. Distribución geográfica de <i>Phytophthora</i> asociadas a mancha negra del cacao	12
2.6. Caracterización molecular de <i>Phytophthora</i>	16
2.6.1. Análisis moleculares en <i>Phytophthora</i>	16
2.6.2. Importancia de los análisis moleculares para <i>Phytophthora</i>	18
2.6.3. Uso del gen 18S para la identificación molecular de <i>Phytophthora</i>	19
III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1. Área de estudio	21

3.2. Material biológico	21
3.3. Colecta y aislamientos de <i>Phytophthora</i> de los cacaotales	21
3.3.1. Aislamientos de <i>Phytophthora</i>	22
3.3.2. Aislamiento de <i>Phytophthora</i> a partir de muestras de suelo inoculado en mazorca de cacao sana	23
3.3.3. Clonación de los aislamientos	23
3.3.4. Cepas de referencia	23
3.4. Caracterización fisiológica y morfológica de las cepas	24
3.4.1. Efecto de la temperatura sobre el desarrollo de las colonias	24
3.4.2. Morfología colonial	25
3.4.3. Tipos de micelio y dimensiones	25
3.4.4. Tipos de esporangios y dimensiones	25
3.4.5. Formación de Clamidosporas, dimensiones y posición	25
3.5. Caracterización de estructuras sexuales	26
3.5.1. Tipo de compatibilidad sexual de las cepas de cacao	26
3.5.2. Formas de zoosporas y dimensiones	26
3.6. Caracterización molecular	27
3.6.1. Extracción de ADNr	27
3.6.2. Amplificación del gen 18S ADNr por PCR	28
3.6.3. Electroforesis en geles de agarosa	29
3.6.4. Purificación de los fragmentos de ADNr amplificados	29
3.6.5. Secuenciación del ADN purificado	29
IV. RESULTADOS	31
4.1. Colecta y aislamientos de <i>Phytophthora</i> de los cacaotales	31
4.2.2. Efecto de la temperatura sobre el desarrollo de las colonias	33
4.2.3. Caracterización morfofocultural de cepas	36
4.2.4. Tipos de colonias	36
4.2.5. Tipos de micelio y dimensiones	37
4.2.6. Tipo de esporangios y dimensiones	38
4.2.7. Formación de clamidosporas, dimensiones y posición	42
4.3. Caracterización de estructuras sexuales	43
4.3.1. Tipo de compatibilidad sexual de las cepas de cacao	43
4.3.2. Forma y dimensiones de las oosporas	46

4. 4. Caracterización molecular	49
4.4.1. Electroforesis en geles de agarosa	49
4. 4. 2. Secuenciación del ADN purificado	50
4. 4. 3 Alineamiento múltiple de las secuencias parciales del gen 18S ADNr obtenida de las cepas de <i>Phytophthora</i> aisladas a partir de cacao.....	50
4. 4. 4. Establecimiento de Dendrogramas o Árbol de similitudes	50
V. DISCUSIÓN	54
VI. CONCLUSIÓN	59
VII. RECOMENDACIÓN	60
VIII. LITERATURA CITADA	61
IX. APENDICE	67

ÍNDICE DE CUADRO

Cuadro 1.	Clasificación taxonómica de <i>Phytophthora</i>	7
Cuadro 2.	Oligonucleótidos iniciadores empleados en las reacciones de amplificación y secuenciación de un fragmento del gen 18S ADNr a partir del ADNr de los aislados de <i>Phytophthora</i>	28
Cuadro 3.	Cepas de <i>Phytophthora</i> aisladas de fruto de cacao y suelo, en el sureste de México, por clave, origen geográfico, incluyendo geoposicionamiento, estado (Tabasco y Chiapas), municipio y localidad.	32
Cuadro 4.	Tipo de colonia, intervalo de temperatura de máximo crecimiento y tasa de crecimiento micelial por cada 12 h, de los aislados obtenidos a partir de mazorcas de cacao.	35
Cuadro 5.	Características morfológicas de aislamiento de <i>Phytophthora</i> de cacao correspondiente a 30 estructuras asexuales.	41
Cuadro 6.	Medidas de las características morfológicas correspondientes a clamidosporas.	42
Cuadro 7.	Desarrollo de colonias en diferentes medios de cultivos y tipo de compatibilidad de las cepas.	45
Cuadro 8.	Dimensiones de estructuras sexuales del área de contacto entre <i>Phytophthora</i> aisladas de cacao y confrontadas con <i>P. capsici</i> A1 o A2.	48
Cuadro 9.	Porcentaje de identidad de la secuencia parcial del gen 18S ADNr de las cepas <i>Phytophthora</i> con las secuencias de referencias de los parientes más próximos.	51

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Ciclo de vida de *Phytophthora* (Ortiz-García, 1996). Adaptado por Ramos Grajales Yansi Karina.8
- Figura 2.** Lesiones sintomáticas de muestras de campo usadas para aislar el patógeno de interés. Fotos: Dr. Carlos Fredy Ortiz García.21
- Figura 3.** Distribución geográfica de sitios de muestreo de *Phytophthora*, en el estado de Tabasco y norte de Chiapas, México.....22
- Figura 4.** Aislamientos madre de *Phytophthora* a partir de mazorcas de cacao (izquierda); cepa pura en cultivo monosporico (derecha). Fotos: Yansi Karina Ramos Grajales.
31
- Figura 5.** Patrones de crecimiento de colonias de *Phytophthora* aisladas de fruto de cacao, después de 96 h de incubación a 25 ° C, en medio V8: algodonosa aéreo (A) representativo del grupo dos; estrellado con micelio bajo compacto representativo del grupo uno (B); petaloide aéreo algodonoso representativo del grupo tres(C); D y E colonias de cepas de referencia.....37
- Figura 6.** Tipos de micelio de los aislados de *Phytophthora*, micelio toruloso (a) y; micelio liso y grueso (b).....37
- Figura 7.** Forma de esporangios de aislados de *Phytophthora* de aislamientos de mazorcas de cacao observados a 40x. Esporangios ovoides elípticos, cuellos largos y papilados, libres e individuales, semiredondeados, con papila prominente. (Bar =10µm).....39
- Figura 8.** Esporangios pequeños, representativos de los aislados CPCM01 y CPCM10, con arreglo simple aparentando un tipo simpodio. (Bar = 10 µm).40
- Figura 9.** Esporangios en formas elipsoidales, base cónica, pedicelo largo en arreglo tipo umbela, típica de los aislamientos CPCM06, CPCM13 y CPCM24). (Bar = 10 µm).40
- Figura 10.** Clamidosporas de *Phytophthora* de aislados de cacao de acuerdo a su posición: forma terminal (a) y forma intercalar en el micelio (b). (Bar=10 µm).43
- Figura 11.** Desarrollo de colonias de las cepas confrontadas *in vitro* con las cepas de referencia: confrontación en medios de cultivo V8 clarificado. Colonias duales (*P. capsici* izquierda y *Phytophthora* aisladas de cacao, derecha) (A) y colonia dual de la confrontación de dos cepas de *Phytophthora* aisladas de cacao (B).44
- Figura 12.** Órganos sexuales de *Phytophthora*: oosporas de *Phytophthora capsici* (A); Anteridio anfiginos, oogonio y oospora de la confrontación de *P. capsici* (CPCM2C) con cepas de cacao (B); *P. capsici* (A₁) x CPCM03 (A₂) con oogonio de forma adornada (C), y oospora de confrontación de *P. capsici* (CPCM3C) x CPCM27 (A₂) (D).(Bar = 10 µm).....47
- Figura 13.** Fragmento de ADN del gen 18S ADN_r amplificado por PCR con los oligonucleótidos iniciadores LV1 y LV2 a partir del ADN_r de las cepas CPCM5, 27, 7, A2, M11, A1, 24 y 13, aisladas a partir de mazorcas de cacao. Se amplifico

un fragmento de ADN de 1700pb aproximadamente (M) Marcador de talla molecular de ADN de 1 kb plus.....49

- Figura 14.** Relaciones de similitud de las secuencias nucleotídicas del gen 18S ADNr de *Phytophthora* aisladas de frutos de cacao. La barra indica el número de cambios por cada 100 nucleótidos. El número de cada nodo indica el valor de bootstrap mostrado en porcentaje. Se utilizaron secuencias de referencia de *P. capsici* (BTO32234) y *P. tropicalis* (AY742743) y organismo externo fuera del grupo a *Pythium* (EF26539).52
- Figura 15.** Distribución geográfica de los aislados de acuerdo a la especie identificada molecularmente.53

I. INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es una planta de origen neotropical. Se distribuye desde Sudamérica hasta México, desde los 18° norte y 15° latitud sur. Particularmente de la cuenca amazónica (Whitlock *et al.*, 2001), región considerada como su centro de origen (Cuatrecasas, 1964; Motamayor *et al.*, 2008). A nivel mundial, de la especie *T. cacao* se reconocen tres tipos, con base en la diversidad morfológica: dos subespecies (*Theobroma cacao* ssp. *cacao*, *T. cacao* ssp. *sphaerocarpum*) y un híbrido llamado cacao Trinitario (Cuatrecasas, 1964). Con base en la diversidad morfológica observada en Centro y Sudamérica (Cuatrecasas, 1964) propuso la evolución de dos grupos morfogeográficos registrados como subespecies: *T. cacao* ssp. *cacao* (Criollo) y *T. cacao* ssp. *v* (Forastero). Un tercer grupo originado de cruces naturales del Criollo y Forastero es llamado Trinitario. Dicha variabilidad se ha ampliado con marcadores moleculares a 10 grupos genéticos identificados: Marañón, Curaray, Criollo, Iquitos, Nanay, Contamana, Amelonado, Purús, Nacional y Guaiana (Motamayor *et al.*, 2008).

La producción mundial de cacao asciende a los 4.2 millones de toneladas (FAO, 2014). Los principales países productores son: Costa de Marfil, Ghana, Nigeria y Camerún. Estos países aportan cerca de 66% de la producción mundial y 75% de las exportaciones mundiales de granos de cacao. Otros países productores de granos de cacao son: Indonesia, Malasia, Brasil, Colombia, Ecuador, República Dominicana y México (FAO, 2014). En México se cultivan 61,397 ha, en los estados de Tabasco, Chiapas y Guerrero (SIAP, 2015), con una producción 28,006.59 ha y un rendimiento de 0.47 t/ha, lo que equivale a 1, 034,792.76 (miles de pesos) a nivel nacional (SIAP, 2015).

En las plantaciones de cacao, las enfermedades bióticas conforman la principal limitante en la producción de cacao a nivel mundial. Entre ellas destaca la mancha negra (*Phytophthora* spp.), la cual ocasionan pérdidas en promedio de hasta 30% de la producción mundial. Para 2012, se estimó una pérdida de 700,000 t de la producción, originada por este patógeno (Ploetz, 2016). En América destaca la moniliasis. Sin embargo, las incidencias de la mancha negra se expresan en función de la especie que la causa *P. megakarya*, presente únicamente en los países de África, puede destruir hasta el 80% de la producción; mientras que *P. palmivora*, presente en centro y Sudamérica, Asia y Oceanía provocan daños de menores consecuencias; así mismo el complejo de *P. capsici* y *P. tropicalis* con mayor severidad en Brasil, México y Hawái (Ortiz-García,

1996) provocan daños intermedios. Por tal razón es considerada la enfermedad de mayor impacto a nivel mundial.

La mancha negra del cacao (MNC) se conoce como una enfermedad de aparición cíclica. Esto sugiere una estrecha relación con los factores tiempo y microclima, que asumen un papel importante en la aparición de brotes de la enfermedad. Existe una correlación negativa entre la temperatura y la incidencia de la enfermedad; y a su vez, hay una correlación entre temperaturas menores a 20 °C. Humedad relativa superior al 85%; sin embargo, en los últimos años también se le ha relacionado con la susceptibilidad de la variedad de cacao (Ortiz-García, 1996).

La MNC en estos frutos se caracteriza por la presencia de manchas circulares oscuras individuales o múltiples, tanto en las puntas y bases como en las partes medias, en cualquier etapa de desarrollo. También puede generar pudriciones de la raíz, canchales en tallos y cojinetes florales, esto dependiendo de la especie de *Phytophthora* (Phillips, 2003).

La especie de *Phytophthora* responsable de la MNC inicialmente recibió el nombre de *Phytophthora faberi* por Maublanc en 1909; Butler (1919) y más tarde Ashby (1929) establecen que cepas del género *Phytophthora*, aislados de cacao, hule, palma, coco y algodón, estaban estrechamente relacionados entre sí; por lo que se le renombró *P. palmivora*. Desde entonces, hasta el final de la década de los 70, la MNC en todo el mundo fue considerada como una sola especie: *P. palmivora* (Brasier y Griffin, 1979). Estos autores corrigieron este error proponiendo cuatro grupos morfológicos distintos (MF), entre los cuales ratificaron a *P. palmivora* como patógeno del cacao y con distribución mundial, y describieron a *P. megakarya* como una nueva especie, con presencia única en África; además, propusieron la forma MF4, que posteriormente fue asociada a *P. capsici* (Alizadeh y Tsao, 1988), *P. citrophthora* (Zetmeyer, 1988) y *P. tropicalis* (Aragaki y Uchida, 2001). Otras especies señaladas excepcionalmente como patógenas de cacao son: *P. hevae* (Lozano y Romero, 1984), *P. katsurae* (Liyanage y Wheeler, 1989), *P. meadii* (Baker, 1936; Sreenivasan, 1975), *P. botryosa* (Chee y Wastie, 1970), *P. parasitica* y *P. megasperma* (Zentmyer, 1983); sin embargo, sólo ocho especies incluyendo las antes mencionadas (*P. palmivora*, *P. capsici*, *P. tropicalis*, *P. megakarya*, *P. citrophthora*, *P. nicotianae* var. *parasitica*, *P. megasperma* y *P. arecae*) se reportan con mayor importancia patogénicas para *T. cacao* (Stamps et al., 1998).

En México se han realizados diversos estudios sobre la etiología, epidemiología y taxonomía del agente causal de MNC, tanto en Tabasco como en Chiapas. Dentro de la primera lista de

hongos de México (Zenteno *et al.*, 1955) se registraron los estudios realizados por Limón-Badillo (1945) quien señalaba a *P. palmivora* causando la mancha negra del cacao en Tabasco. Otros estudios de taxonomía de *Phytophthora* de cacao basado en criterios morfológicos fueron realizados por Lozano y Romero (1984). Reportaron la presencia de *P. citrophthora*, *P. capsici*, *P. palmivora* y *P. heavae*; sin embargo, no precisan el origen de cada aislamiento. Asimismo, Montes-Belmontes y de los Santos (1989), reportaron la presencia de *P. citrophthora* en todos los municipios estudiados y *P. capsici* en los cinco municipios de Tabasco y en Cacahuatán y Tuxtla Chico de Chiapas; además, para la costa pacífica de Chiapas reportaron a *P. palmivora* en el municipio de Tuxtla Chico y a *P. nicotianae* var. *parasitica* en Rosario Izapa. En Tuxtla chico y Rosario Izapa, *P. nicotianae* var. *parasitica*. Por otro lado, Ortiz-García, (1996) reporto únicamente la presencia de *P. capsici* en los municipios cacaoteros de Tabasco: Paraíso, Comalcalco, Cunduacán, Cárdenas, Nacajuca, Huimanguillo, Teapa y Tacotalpa y del norte de Chiapas: Ostucán y Pichucalco. Un estudio más reciente en Chiapas confirma la presencia de *P. capsici* por técnicas moleculares (Hernández, 2014).

En la identificación morfológica de algunas especies de *Phytophthora*, las diferencias entre especies de un mismo grupo son reducidas y algunas muy variables lo cual dificulta la correcta identificación, (Jaramillo, 2003; Martin *et al.*, 2003). Esta situación ha mejorado con la adopción de técnicas moleculares, como las que describe Abad (2008). Las cuales asocian criterios morfológicos y moleculares, lo que ha favorecido la descripción de nuevas especies, ratificando la integración de grupos complejos como *P. capsici* (Martin, 2003). Así, Aragaki y Uchida (2001) empleando características moleculares describieron en Hawái la presencia de una nueva especie *P. tropicalis* antes asociadas al grupo *P. capsici*.

Actualmente no existen estudios moleculares que corroboren las especies de *Phytophthora* descritas como agentes causales de la mancha negra del cacao en México que ubiquen a *P. capsici*, *P. palmivora*, *P. citrophthora* y *P. nicotianae* var. *parasitica* como las únicas especies presente en estas plantaciones. Con base a lo anteriormente descrito, es imperativo la revisión de las especies del género *Phytophthora* que atacan al cacao en el sureste de México, apoyándose tanto en técnicas morfológicas como en moleculares, para diferenciar las especies presentes en el sureste de México (Tabasco y Chiapas) con el propósito de aportar al esclarecimiento de la o las especies presentes en el sureste de México causando la MNC.

1.1. Objetivo General

Identificar morfológica y molecularmente las especies de *Phytophthora*, responsables de la enfermedad conocida como mancha negra, presentes en plantaciones de cacao (*Theobroma cacao*) en Tabasco y Chiapas.

1.1.2. Objetivos específicos

- a) Caracterizar morfológica y fisiológicamente cepas de *Phytophthora* aisladas en plantaciones de cacao de Tabasco y Chiapas, para su identificación.
- b) Identificar las especies de *Phytophthora* mediante la amplificación de un fragmento del gen 18S.

1.2. Hipótesis

En los cacaotales de los estados de Tabasco y Chiapas podrían coexistir más de una especie de *Phytophthora* causantes de la mancha negra en cacao.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Generalidades del cacao

El cacao es una planta neotropical perenne de la familia Malvácea (Alverson *et al.*, 1999), su centro de origen es la cuenca amazónica (Cuatrecasas, 1964) (Whitlock *et al.*, 2001, Motamayor *et al.*, 2008). El cacao fue domesticado por las culturas prehispánicas mesoamericanas (Coe y Coe, 2013). Utensilios de esa época muestran evidencias del uso y consumo por las antiguas culturas en México (Makayas y Olmecas) quienes se remontan a 3.800 años (1800-1000 A. C.) y son consideradas las culturas que domesticaron al cacao (Powis *et al.*, 2011). Se desarrolla desde los 20° N y 20° S, en altitudes de 0 hasta 1250 msnm. *Theobroma cacao* se desarrolla en ambientes de selvas tropicales con abundante precipitación y baja luminosidad; las condiciones de crecimiento del árbol dependerán del ambiente donde se desarrolle al igual que el genotipo y el sistema de cultivo. Su hábito de crecimiento es dimórfico, con brotes ortotrópicos o chupones que tienen hojas en espiral y las ramas plagiotrópicas o en abanico con hojas alternas. La inflorescencia se localiza en el tallo, alrededor de la yema axilar y en la cicatriz que dejan las hojas al caerse, originando con el tiempo una estructura llamada cojinete floral. Es de polinización entomófila, el fruto es una baya (anfisarca) conocida como mazorcas, las semillas están dispuestas en placentación axial e incrustadas en una masa mucilaginosa (López *et al.*, 1996).

2.1.2. El cacao en Tabasco y Chiapas

En México, las plantaciones comerciales de cacao se encuentran en el sureste, donde destacan los estados de Tabasco y Chiapas, los cuales producen el 99.45% del total nacional de cacao. Tabasco es el estado con mayor superficie de cultivo, con aproximadamente 40,878 ha, con una producción anual de 15,921t en la cual interviene municipios como: Huimanguillo, Cárdenas, Cunduacán, Comalcalco y Paraíso, Jalpa de Méndez, Nacajuca, Teapa, y Tacotalpa. En el estado de Chiapas se reporta una superficie de 18,794 ha, una producción anual de 8,834t con la participación de cinco municipios: Tuxtla Gutiérrez, Ostuacán, Pichucalco, Palenque y Tapachula (SIAP, 2017). En Tabasco y Chiapas, los cacaoteros emplean mano de obra familiar para la producción y diversifican su cacaotal con especies maderables y frutales (Córdova, 2008 y Hernández, 2014).

2.1.3. Enfermedades del cacao

Las enfermedades bióticas son las que tienen mayor impacto en la producción de cacao en el mundo. Entre ellas destacan la mazorca negra (*P. palmivora*), la moniliasis del cacao (*Moniliophthora roreri*) (Cif and Par.) (Evans *et al.*, 2003) y la escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa* Stahel (Aime y Phillips, 2005) provocando pérdidas superiores por estas enfermedades de hasta 80% en la producción (Griffith *et al.*, 2003; Phillips, 2004; Phillips *et al.*, 2006). En México y particularmente en Tabasco, las enfermedades son uno de los principales factores limitantes en la producción del cacao (López *et al.*, 1996).

2. 2. Importancia del género *Phytophthora*

La mayoría de las especies del género *Phytophthora* producen síntomas en diferentes tipos de plantas, generalmente como: pudriciones de raíz, ahogamiento de plántulas, lesión en tallos, pudriciones de yema, frutos y tizones foliares. Algunas especies son específicas al hospedero otras tienen un amplio rango y pueden producir síntomas similares o distintos en muchos tipos de plantas hospederas (Griffith y Shaw 1998, Agrios, 2005).

Al respecto *P. palmivora*, *P. megakarya*, *P. capsici* y *P. citrophthora*, causan manchas circulares en los frutos de cacao (Ortiz-García, 1996); sin embargo, algunas de ellas también son patógenas de cocotero, hule, cítricos, papaya, zapote, pimienta, palma africana, cuya coexistencia podría favorecer la diversificación genética de estos patógenos con impacto negativo en la agricultura (López *et al.*, 1996).

2. 2. 1. Taxonomía de *Phytophthora*

Debido a su morfología filamentosa, inicialmente fue incluida en el reino vegetal y después al Reino fungí (Raven *et al.*, 1999). Posteriormente, Gunderson, *et al.* (1987) y Paquin *et al.* (1997) propusieron a este género en el reino Chromista. Actualmente, el género *Phytophthora* está incluido en el reino Stramenopila (Birch y Whisson, 2001) como se muestra en el Cuadro 1, debido a características moleculares que diferencian a este género de los hongos verdaderos, como la presencia de celulosa en la pared a diferencia de la quitina.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de *Phytophthora*.

Alexopoulos, 1979	Gunderson et al., 1987	Birch y Whisson, 2001
	Reino: Chromista	Reino: Stramenopila
División: Eumycota	Phylum: Oomycota	Phylum: Oomycota
Clase: Oomycetes	Clase: Oomycetes	Clase: Oomycetes
Orden: Peronosporales	Orden: Peronosporales	Orden: Peronosporales
Familia: Pythiaceae	Familia: Pythiaceae	Familia: Pythiaceae
Género : <i>Phytophthora</i>	Género: <i>Phytophthora</i>	Género: <i>Phytophthora</i>

2.2.2. Ciclo de vida de *Phytophthora* en cacao

El ciclo de vida de *Phytophthora* se integra tanto por estructuras asexuales como micelio, esporangios, zoosporas, clamidosporas y sexual como las oosporas.

El ciclo de vida inicia cuando las clamidosporas (Frías, 1981), germinan de forma indirecta produciendo esporangios liberando zoosporas o bien de forma directamente produciendo micelio, y formando esporangios las cuales en condiciones óptimas de humedad (> 80%) y temperatura (15°-38°C) forman y liberan zoosporas móviles de vida corta (Figura 1); Estas zoosporas poseen dos flagelos que le confieren motilidad y tienen las funciones de la diseminación del patógeno a nuevos hospederos y la del reconocimiento de señales en el sitio de infección (Walker y Van West, 2007). Ahí, las zoosporas forman quistes que emiten un micelio y penetran sobre la superficie de la mazorca, por medio del salpique de lluvias, estas provocan formación de puntos transparentes que se desarrollan en lesiones de color café, las que después de 2 a 5 días empieza a crecer hasta cubrir toda la superficie de la mazorca, sobre la superficie se forma una mancha café en la cual aparece una pelusa blanquecina (micelio), en el que se forma masas de esporangios, lo que conlleva nuevamente al inicio del ciclo que se repite mientras se presenten las condiciones favorables para germinar y diseminarse.

Los granos o almendras de las mazorcas enfermas permanecen sin daño durante varios días, después del inicio de la infección en la superficie de mazorca, hasta que progresivamente *Phytophthora* invade todo el tejido. Una vez completo el ciclo de vida, *Phytophthora* puede continuar su dispersión a gran escala a través del agua o por insectos (López, et al., 1996).

Durante el proceso infectivo, dos micelios de compatibilidad complementaria (A1 y A2) pueden encontrarse, Gállegly y Galindo (1958); entonces, se puede dar la reproducción sexual, en la

cual se forman estructuras de resistencias llamadas oosporas. En este proceso intervienen dos tipos de estructuras especializadas llamadas anteridios (estructura reproductiva masculina) y oogonio (estructura reproductiva femenina). Sin embargo, las oosporas son raramente observadas en la naturaleza, debido a que los dos tipos de apareamiento (A1 y A2) pocas veces coinciden (Guest, 2007).

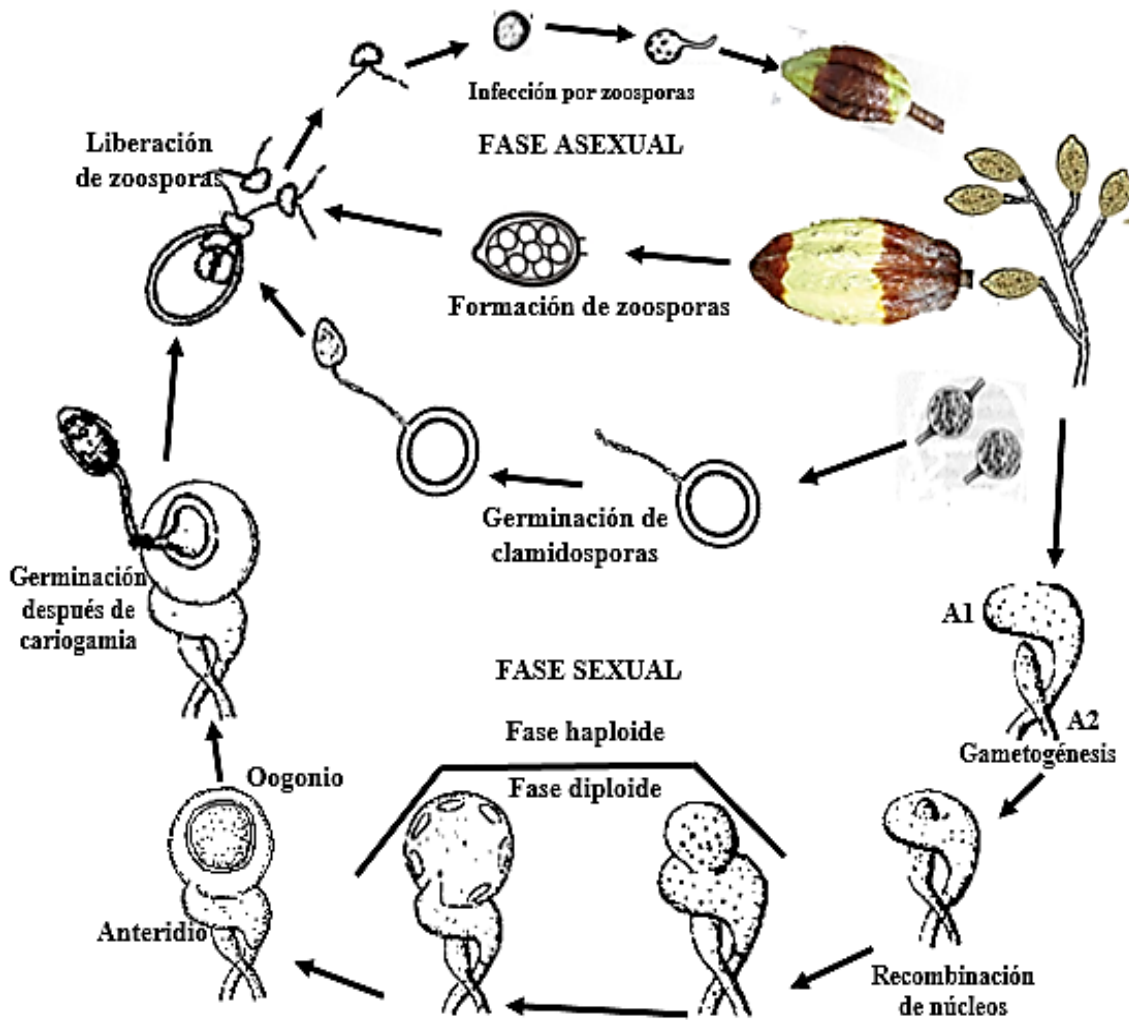


Figura 1. Ciclo de vida de *Phytophthora* (Ortiz-García, 1996). Adaptado por Ramos Grajales Yansi Karina.

2.2.3. Características morfológicas asexuales y sexuales de *Phytophthora*

2.2.4. Micelio y formas de colonias

Todas las especies del género *Phytophthora* poseen el micelio liso cenocítico, observándose raramente la presencia de septos en las partes viejas carentes de protoplasma. Existen algunas especies en las cuales, bajo ciertas condiciones de cultivo, el micelio se presenta toruloso, con protuberancias y vesículas o características propias de la especie (Waterhouse, 1963; Boccas y Laville, 1976). En medios de cultivo sólidos, el micelio se presenta de forma aérea y puede tener crecimiento marcadamente radiado o ligeramente estrellado, presentando bordes de la colonia redondeados o sinuosos y sumergido en el medio, siendo precisamente en este último en el que pueden diferenciarse las protuberancias y engrosamientos (Tuset, 1977).

Asimismo, se pueden originar variaciones del aspecto del micelio en algún sector de la colonia, las cuales pueden ser relevantes tanto macroscópica como microscópicamente; Además de las variaciones morfológicas, también pueden presentarse variaciones fisiológicas y de virulencia, debido a que pueden producir nuevas razas más agresivas (Boccas y Laville, 1976). Cuando las especies del género *Pythophthora* son cultivadas, el desarrollo del micelio se ve condicionado por varios factores tales como la composición del medio, temperatura, nutrientes, tensión de oxígeno y CO₂, el pH y la luz (Tuset, 1997; Erwin *et al.*, 1993).

Es importante resaltar el papel que ocupa la temperatura entre los factores que limitan el crecimiento vegetativo de *Phytophthora*, razones por las cuales constituye un parámetro de elevada relevancia en la taxonomía. El margen de temperatura compatible con el desarrollo del micelio va desde 1 a 37 °C, donde la temperatura óptima para la mayoría de las especies está el intervalo de 20 a 28 °C; teniendo en cuenta que este valor es específico para cada una de ellas (Erwin y Ribeiro, 1996).

En el caso del pH, el rango permisible para medios de cultivo de *Phytophthora* se encuentra entre 3.5 y 10, en intervalo de 4.5 y 5.5. Generalmente, los valores de pH que permiten el mejor desarrollo del micelio también son favorables para la producción de esporangios, clamidosporas y oosporas (Boccas y Laville, 1976).

2.2.5. Esporangios

Los esporangios son las estructuras reproductivas asexuales de *Phytophthora*; éstos pueden presentarse de múltiples formas, lo que dependerá de la especie. Están unidos al micelio por esporangióforos o pedicelos y en algunas ocasiones pueden presentar hinchamientos. Todas las especies del género presentan esporangios, generalmente se insertan terminalmente en el esporangióforo, aunque también pueden ser intercalares. Existen características del esporangio que son muy importantes para la taxonomía de las especies como su forma y tamaño, además de sus dimensiones, la manera en que éstos se producen, así como la mayor o menor facilidad para desprenderse del esporangióforo. Esta última característica permite clasificarlos como: caducos, si se desprenden fácilmente y no caducos, si no se desprende con facilidad; del esporangióforo. Desde un punto de vista taxonómico, también es importante la longitud del pedicelo al desprenderse del esporangióforo (Zentmyer y Mitchell, 1986). Las papilas también resultan de importancia a la hora de la caracterización, la presencia o no sus formas papiladas, semipapiladas. Además de sus dimensiones, en la taxonomía de *Phytophthora* resulta significativas para agruparlas (Erwin & Ribeiro, 1996).

La temperatura óptima para la producción de esporangios es diferente y específica para cada especie, por lo que juega un papel destacado en la taxonomía de este género, comprendida entre 20 y 28 °C (Zentmyer y Mitchell, 1986).

2.2.6. Clamidosporas

Las clamidosporas constituyen otro órgano asexual de conservación y supervivencia de *Phytophthora* (Erwin y Ribeiro, 1996). Generalmente estas estructuras son de forma redondeada con pared bien definida (más de 2 µm de espesor), con posición en el micelio de forma intercalar, aunque también pueden producirse en el extremo terminal de las hifas. Sin embargo, debido a que no se forman en todas las especies, por lo que su presencia es importante para la taxonomía de este género (Waterhouse, 1963; Boccas y Laville, 1976; Tuset, 1977).

2.2.7. Oosporas

Las oosporas son estructuras de supervivencia de origen sexual, se forman por el acoplamiento de dos tipos de estructuras especializadas, anteridio y oogonio de compatibilidad complementaria (A1 y A2), las cuales pueden estar en el mismo individuo (homotálicos o

autofértil) o en individuos separados (heterotálicos o autoestéril) (Savage *et al.*, 1968). Las oosporas germinan desarrollando micelio o bien esporangios en el extremo dando origen a las zoosporas.

Los tipos de compatibilidad en *Phytophthora* se designaron como A1 y A2, mediante estudios de apareamiento que producen oosporas cuando entran en contacto con cepas compatibles. Dentro del género *Phytophthora* existen especies homotálicas como *P. cactorum*, *P. megasperma* y *P. citrícola*, las cuales son capaces de completar su ciclo de vida con aislamientos individuales (Waterhouse, 1963).

Según Waterhouse (1974), los tipos de compatibilidad A1 y A2 se registraron para *P. palmivora*; sin embargo, la compatibilidad alcanza el dominio sobre el otro en la distribución en ciertos cultivos. Por ejemplo, en cacao *P. palmivora*, la compatibilidad es de tipo A2, la cual es predominante en todo el mundo (Turner, 1961; Zentmyer, 1974), a excepción de Jamaica, donde se informó del tipo A1. Por el contrario, en *P. megakarya* el tipo de compatibilidad dominante es el A1, aunque se reporta la distribución de ambos tipos (Brasier y Griffin, 1979). Del mismo modo se reporta que A1 es el tipo de compatibilidad predominante en *P. capsici* (Ortiz-García, 1996; Chowdappa y Chandramohan, 1997).

Entre las características destacadas de las oosporas es generar mayor variabilidad entre las especies, además de ser una estructura de mayor sobrevivencia, que le permite resistir condiciones desfavorables (Smart *et al.*, 2000).

2.3. Epidemiología de la mancha negra del cacao

Este género oomyceto se ve favorecido por las bajas temperaturas, alta humedad en el suelo y atmosférica. Los factores que favorecen el desarrollo de la enfermedad pueden variar de acuerdo con la especie; sin embargo, se ha encontrado que la incidencia de la enfermedad depende de la cantidad de inóculo, precipitación, temperatura, humedad o la combinación entre estos factores (Galindo, 1986). La precipitación es uno de los factores más importantes para la ocurrencia de una epidemia, iniciándose de cuatro a cinco días después de una intensa lluvia. El principal agente de diseminación vertical de las zoosporas es el salpique ocasionado por la lluvia y el agua que escurre de troncos y ramas. Así mismo la incidencia y severidad de la enfermedad se incrementa cuando hay una alta humedad relativa durante largos periodos de tiempo y las temperaturas son 18-20 °C, condiciones que favorecen la reproducción de *Phytophthora*. Las

principales fuentes de inóculo para *Phytophthora* son el suelo infectado, frutos enfermos, las mazorcas momificadas, la corteza del tronco y los brotes de cacao infectados que crecen cerca del suelo (Ortiz-García, 1996).

En Tabasco se ha reportado que el suelo es la fuente de inóculo primario, que al estar en contacto con las mazorcas más próximas al suelo se observan los primeros síntomas de esta enfermedad a inicios de las lluvias por salpique de suelo contaminado el cual se inicia la multiplicación de *Phytophthora* a través de la germinación de las esporas, las que se distribuyen por medio del agua o insectos; además de la producción de oosporas y clamidosporas (Márquez y Montes, 1978).

2.4. Especies de *Phytophthora* asociadas a la mancha negra de cacao

Ocho especies del género *Phytophthora* se han descrito en cacaotales, con distribución heterogénea en el mundo, predominando *P. palmivora* de acuerdo con la zona geográfica y en algunos casos con ciertos hospederos. Estas especies además de *P. palmivora*, *P.* también se encuentra *megakarya*, *P. capsici*, *P. citrophthora*, *P. nicotianae* var. *parasitica*, *P. megasperma* y *P. arecae* (Ortiz- García, 1996). Así como *P. tropicalis* que fue descrita recientemente (Aragaki y Uchida, 2001).

2.5. Distribución geográfica de *Phytophthora* asociadas a mancha negra del cacao

Phytophthora palmivora fue descrita por Butler en 1907 con el nombre de *Pythium palmivora* y el mismo autor la reclasificó como *P. palmivora* en 1909. Entre los principales hospedantes se encuentra el cacao, palma de coco, papaya, higo y cítricos (Romero, 1993). *P. palmivora* se desarrolla en el rango de temperaturas de 11 a 35 °C, con una temperatura óptima 27 y 32 °C; presenta hifas uniformes, cenocíticas, medianamente ramificado pocas veces sobrepasan los 5 µm de diámetro. En medios de cultivos presenta colonias circulares uniformes, ligeramente radiadas. Los esporangios de forma ovales, obpiriformes >75 µm, promedio del 4-75µm, con papila conspicua (> 3.5 µm). A menudo, esta especie produce clamidosporas abundantes con diámetro < 25µm esféricas o subesféricas 25-35 µm o >35 µm con pared de 2-3 µm a menudo laterales y sésiles (Stamps *et al.*, 1990). Sexualmente los aislados se comportan de forma heterotálicas, con oogonios globosos de 20-42 µm de diámetro y oosporas pleróticas de paredes de 2 µm y presenta anteridios anfígino, esféricos u ovales con un tamaño de 15 x 14 µm. En

cultivos apareados abundan cuando son aislados de compatibilidad opuesta (A1 y A2) Gallegly y Galindo, 1958. *Phytophthora palmivora* se encuentra ampliamente distribuida en las regiones tropicales con climas cálidos y de alta pluviosidad; Brassier y Griffit (1979) la reportaron presente en países cacaoteros de Asia, África, Islas de las Antillas y el Mar Caribe, América central y de Sudamérica. En México sólo se ha reportado causando daños en cacao, en plantaciones vecinas a la frontera con Guatemala, en Chiapas (Tuxtla chico) (Montes-Belmont y de los Santos, 1989).

Phytophthora capsici fue descrita por primera vez en Nuevo México, U. S. A., por Leonian (1922) atacando a cultivos de pimiento morrón; posteriormente, se reportó la presencia de esta especie en otras hortalizas. En México, fue reportada por primera vez por Dr. Galindo en 1956 en plantaciones de chile en el centro del país (Romero, 1993). *P. capsici* presenta un rango de crecimiento por arriba de los 35 °C, las hifas de esta especie son gruesas de 5-7 µm de ancho. Las colonias en medios de cultivos son finamente radiados (Stamps *et al.*, 1990).

Los esporangios son a menudo de forma muy variable; elipsoidales, ovoide, obpiriforme, elípticos, distorsionados y con una o más de una papila, pueden medir 45-75µm y >75 µm. Las clamidiosporas son ausentes o raras; los aislamientos sexualmente se comportan de manera heterotálicas, sin embargo, hay reportes de que algunos aislamientos llegan a producir oogonios de manera homotálica. Las oosporas son apleróticas de pared rugosa y con la edad pueden ser lisas, miden < 30 µm con promedios de 30-40 µm, los oogonio miden 20-30; 30 y 40 µm y forma anteridio anfígeno de 15 x 17 µm (Stamps *et al.*, 1990). *P. capsici* se encuentra distribuida en Europa (Bulgaria, Francia, Italia, Grecia, España, Unión Soviética), Asia (China, India, Irán, Israel, Japón, Corea, Líbano, Malasia, Arabia Saudita, Turquía), América del Norte (Canadá, Estados Unidos y México), Centro y Suramérica y las Antillas (Romero, 1993). En cacao se ha reportado en Chiapas (Hernández, 2014) y Tabasco (Ortiz-García, 1996) como el agente causal de la enfermedad MNC, sin embargo, éstas presentan características morfológicas más como MF4 que describe Brasier y Griffin (1979) y Stamp *et al.* (1990), colonias en forma de flor redondeada con lóbulos muy marcados. En estos estados previamente los aislamientos de cacao se reportaban comúnmente como *P. palmivora* (Limón-Badillo, 1945; Márquez y Montes, 1978; Frías, 1981).

Phytophthora megakarya fue descrita por primera vez por Brasier y Griffin (1979) con aislados provenientes de África occidental, como un elemento más del Grupo II de *Phytophthora* (Waterhouse, 1963), donde causa la enfermedad de mazorca negra. Según define Stamps *et al.* (1990), *P. megakarya* en medios de cultivos se caracteriza por producir micelio aéreo abundante, produce esporangios en racimos, papilados y caducos, son de forma \pm esféricos, ovoides de $< 45 \mu\text{m}$ de largo promedio de 45-75 μm . Los pedicelos de 10-30 μm de largo y papila prominente, y no producen clamidosporas. Esta especie es heteróptica, el oogonio presenta forma cónica en la base, con anteridio anfígeno, generalmente formada en grupos de tamaño $< 30 \mu\text{m}$ y promedio de 30-40 μm y pared de más de 2 μm . Las oosporas son plétoricas de 20-30 y 30-40 μm de diámetro, *P. megakarya* está distribuida solamente en África (Ortiz-García, 1996; ICA, 2012).

Phytophthora citrophthora fue aislado por primera vez por Smith y Smith en 1906, en limones podridos bajo el nombre de *Pythiacystis citrophthora*. Es un patógeno importante de los cítricos e infecta las raíces y las coronas que provoca una goma del tronco. En 1925 se le renombró *P. citrophthora* por Leonian (Bush *et al.*, 2006). *P. citrophthora* presenta las hifas de hasta 6 o 7 μm de ancho. Los esporangios en su mayoría son papilares, persistentes y no caducos, de formas múltiples, esféricos, elipsoidales, ovoides, obpiriforme, distorsionados, intercalares de 45-75 μm y $>75 \mu\text{m}$, generalmente con vesículas intercalares y basales, las estructuras asexuales no están incluidas en las claves (Stamps *et al.*, 1990). Las clamidosporas no ocurren normalmente en los aislados, el diámetro es de <25 a 35 μm , un promedio de $>35\mu\text{m}$. Sin embargo, Mchau y Coffey (1995) informaron que los esporangios pueden producirse caducos para unos aislamientos y para otros no. Los medios de cultivo presentan una apariencia finamente radiada. Se encuentra distribuida en África (Argelia, Angola, Congo, Egipto, Mauricio, Marruecos, Mozambique, Rodesia del Norte, Sudáfrica, Rodesia del Sur, Túnez); Asia (China, India, Irak, Israel, Japón, Malasia, Filipinas, Tailandia, Turquía); Australia (Australia, Islas Cook, Hawái, Nueva Celedonia, Nueva Zelanda); Europa (Chipre, Francia, Italia, España); América Central (Cuba, El Salvador, Jamaica, Puerto Rico); América del Norte (México, Estados Unidos); Suramérica (Argentina, Brasil, Chile, Perú, Surinam, Uruguay) (Stamps *et al.*, 1990). En México existen reportes de la presencia de *P. citrophthora* en Tabasco y Chiapas afectando al cultivo de cacao (Montes-Belmont y de los Santos, 1989).

Phytophthora nicotianae var. *parasitica* descrita, en 1913, por Dastur en plantas de ricino en India; más tarde Fawcett (1916) lo reportó en Argentina atacando cítricos (Romero, 1993). Esta especie presenta hifas gruesas, de hasta 9 μm de ancho irregular, pero sin la protuberancia típica en la base de la hifa. Las formas de esporangios varían desde elipsoides, ovoides, piriformes, hasta esféricos con una papila prominente; los esporangios no son caducos, presentan papilas y se producen individualmente o en un simpodio suelto, los esporangios tienen entre $<45 \mu\text{m}$ de largo y $45-75 \mu\text{m}$ de ancho. La especie tiene clamidiosporas abundantes de hasta $<25 \mu\text{m}$ con promedio de $25-35 \mu\text{m}$ y $>75 \mu\text{m}$, con un grosor de pared de $2-3 \mu\text{m}$. El oogonio se produce en cultivo puro tras varias semanas de crecimiento con un tamaño $<30 \mu\text{m}$ y rangos de $30-40 \mu\text{m}$, el anteridio es esférico y tiene esporas apleróticas de $20-30 \mu\text{m}$. Los medios de cultivo con un patrón irregular de forma de roseta. Las temperaturas de crecimiento $>35 \text{ }^\circ\text{C}$ (Stamps *et al.*, 1990). Este pseudohongo también es común en Grecia, España, Portugal, Estados Unidos, Brasil, Venezuela y México que además de cacao también se le ha encontrado en: cítricos, tabaco, guayaba y jamaica (Romero, 1993). En México se ha reportado en Rosario Izapa Chiapas, afectando mazorcas de cacao (Montes-Belmont y De los Santos, 1989).

Phytophthora megasperma fue encontrada y descrita por Drechsler, en 1931, aislada de *Althea rosea* de raíz y tallo (Romero 1993). Las hifas de esta especie tienen $3 \mu\text{m}$ de ancho. Los esporangios no son papilados, son de forma ovoide, obpiriforme, de 45 a $75 \mu\text{m}$ de largo, no caducos, no presentan papila, pero sí un engrosamiento apical ligero. Los órganos de reproducción sexual abundan en medio de cultivo. Presenta anteridio paragíneo y anfígeno subterminal o intercalar. Los oogonios son esféricos con diámetro de $30-40 \mu\text{m}$ en promedio o de $40-50 \mu\text{m}$, con paredes hialinas o ligeramente amarillentas y con presencia de oosporas apleróticas. También se ha reportado algunos aislamientos que afectan al cacao en Venezuela y Cuba (Stamps *et al.*, 1990).

Phytophthora arecae, inicialmente descrita como *P. omnivora* var. *arecae* se consideró hasta hace poco como una especie distinta, pero ahora se considera que es sinónimo de *P. palmivora* tal como lo sugirió originalmente Tucker en 1931 (Cooke *et al.*, 2000). Presenta hifas uniformes, cenocíticas. En medios de cultivos presenta colonias uniformes, ligeramente radiadas. Esporangióforo simple o ramificado irregularmente en simpodio, los esporangios de forma

ovales, o piriformes, promedio de 45- 75µm. A menudo, esta especie produce clamidiosporas en algunos aislados >35 µm, con oogonios <30 µm y promedio de 30-40 µm, oosporas de 20-30 µm hasta 30-40 µm individuales en algunas aislados. Presenta anteridios anfígino, esféricas u ovals (Stamps *et al.*, 1990).

Phytophthora tropicalis inicialmente clasificado como *P. capsici* (Tsao y Alizadeth, 1988) o *P. MF4* (Brasier y Griffin, 1977), fue separada en una especie distinta por Aragaki y Uchida (2001) basados en las diferencias morfológicas; esta especie presenta esporangios que se forman individualmente o sobre una umbela, son caducos con un pedicelo generalmente más largo que 50 µm. Los esporangios tienen papilas conspicuas, usualmente una, pero ocasionalmente algunos aislamientos pueden presentar múltiples. Las formas del esporangio son uniformes, ovoide, piriforme o elipsoidal con bases cónicas. En su mayoría simetría radial, pero la simetría bilateral puede ser común en algunos aislamientos. Rango de 19-27 µm de diámetro, 40-55 µm de largo con una relación de longitud: de 1.8-2.4 µm. Las clamidiosporas pueden producirse en algunos medios de cultivo con promedio de 27.6 y 33.9 µm de diámetro con paredes de hasta 3 µm de grosor. Son heterotálicas pero muchos aislamientos pueden ser sexualmente estériles.

El oogonio esférico, de paredes lisas con un promedio de 28 µm de diámetro. Anteridio anfígino, de forma amplia cilíndrica o en forma de barril 13.0 x 14. 8 µm. Oosporas esféricas, hialinas, pleróticas y de paredes gruesas. Las temperaturas de crecimiento: mínimo por debajo de 10 °C, óptimo de 24-28 °C y máximo de 35 °C, *P. tropicalis* puede diferenciarse de *P. capsici* por su estrecho esporangio caduco de menos de 26 µm de diámetro, con predominancia de esporangios ahusados, crecimiento pobre o nulo a 35 °C y virulencia débil o nula a *Capsicum* (Aragaki y Uchida 2001). Distribución en los mismos lugares que *P. capsici*.

2.6. Caracterización molecular de *Phytophthora*

2.6.1. Análisis moleculares en *Phytophthora*

Análisis filogenéticos del género *Phytophthora*, han revelado que las especies de este género pueden ser clasificadas en diez grandes grupos (Taiz y Zeiger, 2010). Así también han permitido, aclarar algunas controversias entre la pertenencia de aislados y a describir nuevas

especies, de tal manera que en la actualidad se han duplicado a 58 especies descritas morfológicamente (Stamps *et al.* 1990).

Los marcadores de ADN se basan fundamentalmente en el análisis de las diferencias en pequeñas secuencias de ADN entre individuos. Las técnicas empleadas para ello son muy diversas y dan el nombre a los distintos tipos de marcadores, los cuales pueden ser de carácter dominante o codominante (Karp y Edwards, 1998). Antes de la introducción de las herramientas moleculares, varias características fenotípicas y fisiológicas fueron utilizadas para caracterizar las poblaciones de *Phytophthora*, tales como la morfología de los esporangios, la especificidad con los hospedantes y los tipos de apareamiento presentes. Estos caracteres, a pesar de su variabilidad dentro de un solo aislamiento, cuando se usan en conjunto con marcadores moleculares apropiados, son muy útiles para ilustrar la diversidad poblacional (Lamour *et al.*, 2012).

Los genes comprenden una pequeña porción del ADN genómico que codifica características y están sujetos a una presión de selección en respuesta a los cambios ambientales. Sin embargo, la mayoría de las modificaciones que diferencian a los individuos sobre la base de su ADN ocurren en las regiones no codificantes, regiones conservadas, que están libres de algún tipo de selección (McDonald y Linde, 2002).

Antes de las herramientas moleculares, un número de especies fueron presentadas en la literatura como nuevas con estudios morfológicos, posteriormente se comprobó que correspondían a especies previamente descritas. Un ejemplo de ello fue la identificación de algunos aislamientos de *P. mexicana* (Hotson y Hartge, 1923), la cual; se describió como una especie nueva luego se comprobó que correspondía a *P. capsici* (Erwin y Ribeiro, 1996). Por otro lado, *P. capsici* y *P. tropicalis* fueron consideradas en una misma especie sobre la base de similitudes morfológicas y de datos isoenzimáticos (Mchau y Coffey, 1995; Aragaki y Uchida, 2001) y sólo a partir de la información aportada por la secuencia de ADN se fundamentó la separación de ambas especies.

En la medida en que se desarrollan los secuenciadores automáticos, las técnicas moleculares de identificación de las especies se tornaron una práctica común que posibilitan la identificación más precisa de las especies, sobre todo cuando hay superposición de caracteres morfológicos (Ristaino y Johnson, 1999).

2.6.2. Importancia de los análisis moleculares para *Phytophthora*

Se han documentado varios métodos de identificación para *Phytophthora* basados en el ADN (Forster y Coffey, 1992; Ristaino *et al.*, 1998; Cooke *et al.*, 2002; Kong *et al.*, 2003). Entre estos se destacan el polimorfismo en la longitud de los fragmentos amplificados (AFLP) utilizado para construir mapas filogenéticos para *P. capsici*. Los marcadores genéticos AFLP y microsatélites, (SSR o STR por sus acrónimos en inglés para simple sequence repeat y short tandem repeat), permitieron la caracterización de un número importante de aislamientos y se rastrearon los linajes clonales dentro de las poblaciones, el polimorfismo de conformación de la cadena simple del ADN ribosomal (ADNr) y los productos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Kroon *et al.*, 2012).

En el método molecular, la identificación de aislamientos a nivel de especie se logra a través del análisis de la secuencia de loci específicos. En los estudios realizados en *Phytophthora*, el ADN que codifica el ARN ribosomal (ARNr), es el locus secuenciado con más frecuencia. Compuesto por tres subunidades de genes (18S, 5.8S y 28S) separadas por dos espaciadores transcritos internos (ITS1 e ITS2); que permite detectar diferencias entre y dentro de las especies (Drenth *et al.*, 2006; Gallegly y Hong, 2008).

El primer estudio filogenético sobre el género *Phytophthora*, basado en las secuencias ITS1 e ITS2 fue realizado por Cooke *et al.* (2000). Incluyeron 234 aislamientos de 50 especies de *Phytophthora* y proporcionó la base para la nomenclatura de grupos actuales. Esta extensa base de datos incluye todas las especies descritas y continúa siendo un pilar para propósitos de investigación. Sin embargo, el locus estudiado no es el óptimo para todas las especies, particularmente para las que están más próximas filogenéticamente, por ejemplo *P. rubi* y *P. fragariae* quienes tienen secuencias de ITS idénticas. Recientemente se han secuenciado con fines filogenéticos algunos loci nucleares (proteína ribosomal L10 60S, β -tubulina, enolasa, proteína HS 90, subunidad del ARNr, gen de fusión TigA, factor de elongación 1 α) (Kroon *et al.*, 2004; Blair *et al.*, 2008) y mitocondriales de *Phytophthora* (cox I, nad 1, cox II, nad 9, rps 10 y sec Y) (Martin y Tooley, 2003; Kroon *et al.*, 2004; Martin *et al.*, 2012).

2.6.3. Uso del gen 18S para la identificación molecular de *Phytophthora*

El grupo de genes que codifican para las moléculas de ARNr 18S, 5.8S y 28S se considera que son altamente conservados entre los organismos eucarióticos y normalmente se emplean como marcadores moleculares. El polimorfismo en la longitud del ADN y la variación en la secuencia de las bases pueden utilizarse para agrupar organismos de acuerdo con su origen y relación evolutiva. La identificación de secuencias de ADN desconocidas también puede realizarse comparándolas con bases de datos de secuencias de nucleótidos de taxones conocidos (Viaud *et al.*, 2000; Baayen *et al.*, 2000; Down, 2002).

El gen ribosomal 18S es la región del genoma de los Glomeromycota (hongos formadores de micorrizas arbuscular) secuenciada para estudios de filogenia (Simon *et al.*, 1993). Los datos filogenéticos obtenidos de las secuencias del ADNr 18S de diferentes hongos se han usado para fechar su origen entre 353 a 462 millones de años (Simon *et al.*, 1993), lo que corresponde al periodo en que las plantas primitivas colonizaron los continentes (Gómez *et al.*, 2012). Aunque los iniciadores diseñados para la amplificación y secuenciación de un fragmento de este gen son efectivos para detectar hongos en las raíces de las plantas, su sensibilidad y especificidad se incrementa cuando se combina con una técnica de enriquecimiento selectivo del ADN amplificado (SEAD, por sus siglas en inglés) (Clapp *et al.*, 1995).

Estudios realizados han demostrado que ha sido útil el uso del gen 18S ADNr en amplificaciones de ADNr para *Phytophthora* permitiendo la identificación de especies del género *Phytophthora* tal como se registra en base de datos de la NCBI para *P. palmivora*, *P. megakarya*, *P. citrophthora*, *P. nicotiana* var. *parasitica*, *P. megasperma* y *P. capsici* reportadas como causantes de la mancha negra en cacao.

Por otra parte, Acosta-Pérez *et al.*, 2012) utilizando el gen 18S, así como los oligonucleótidos iniciadores universales: LV1 (5'CCTGCCAGTAGTCATATGCTTGTCT3') y LV2 (5' CACCTACGGAAACCTTGTTACGACT3') de hongos, lograron identificar a *P. nicotianae* var. *parasitica* aisladas de tallos de cítricos en Tabasco, México.

El género *Phytophthora* es uno de los grupos que constantemente se modifica y en los 120 años se han identificado 58 especies para este mismo género. En la última década, el número de especies de *Phytophthora* se han duplicado debido a que se han añadido nuevas especies casi mensualmente en la literatura. Este aumento de especies nuevas se debe, a la disponibilidad de herramientas más sofisticadas como lo es las técnicas moleculares (Kroon *et al.*, 2010) y a la exploración de nuevas áreas y especies vegetales.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Área de estudio

El muestreo se realizó en plantaciones de cacao del estado de Tabasco y Chiapas, México. En Tabasco se muestrearon comunidades de los municipios de Huimanguillo, Cárdenas, Cunduacán, Comalcalco y Paraíso, (subregión de la Chontalpa); Jalpa de Méndez (subregión del Centro); Teapa y Tacotalpa (subregión de la Sierra). En el estado de Chiapas se muestrearon comunidades de los municipios de Pichucalco y Ostuacán en la Región Norte y Tuxtla Chico en la Región del Soconusco. Los trabajos de laboratorio se realizaron en el Laboratorio de Fitopatología del Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco, ubicado en el Periférico Carlos A. Molina s/n, Km. 3.5, H. Cárdenas, Tabasco.

3.2. Material biológico

3.3. Colecta y aislamientos de *Phytophthora* de los cacaotales

En cada plantación muestreada, se colectaron frutos de cacao con síntomas de mancha negra. (Ortiz-García, 1996; Figura 2).



Figura 2. Lesiones sintomáticas de muestras de campo usadas para aislar el patógeno de interés. Fotos: Dr. Carlos Fredy Ortiz García.

Los frutos enfermos fueron colectados y georeferenciados en las plantaciones de cacao de productores cooperantes de las comunidades de los municipios cacaoteros de Tabasco y Chiapas (Figura 3), fueron depositadas en bolsas de polietileno, etiquetadas y conservadas en un lugar fresco y transportadas al Laboratorio de Fitopatología del Campus Tabasco del Colegio de Postgraduados, donde se realizaron los aislamientos.

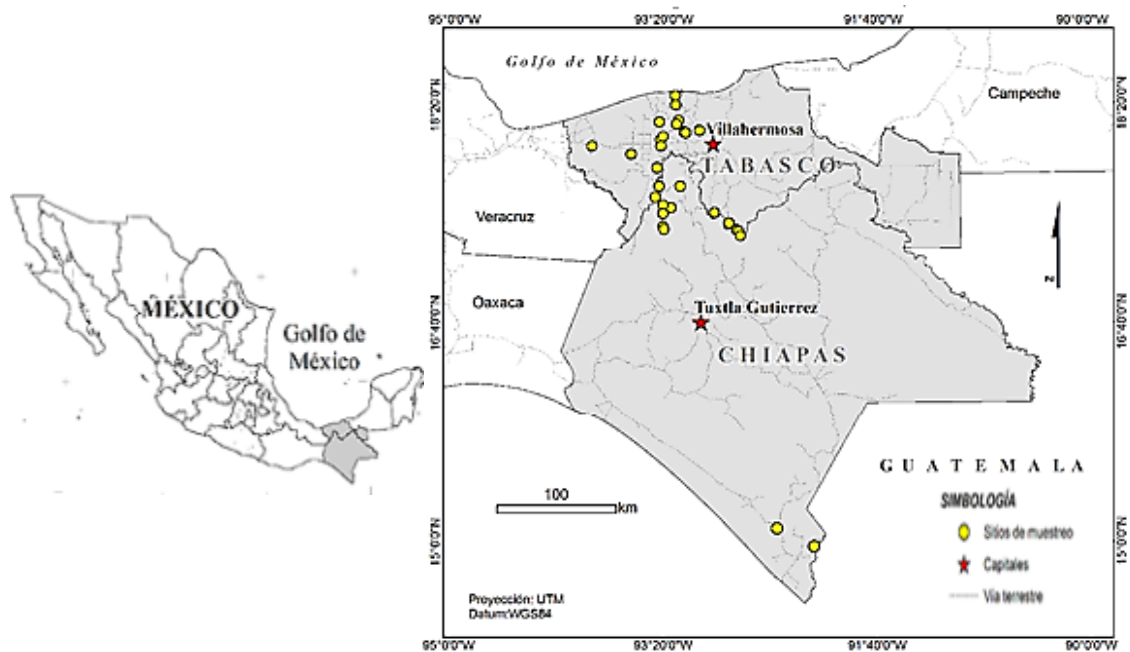


Figura 3. Distribución geográfica de sitios de muestreo de *Phytophthora*, en el estado de Tabasco y norte de Chiapas, México.

3.3.1. Aislamientos de *Phytophthora*

En laboratorio, cada mazorca fue lavada superficialmente con agua destilada estéril y desinfectada con alcohol al 95% (Ortiz-García, 1996). Para el aislamiento del agente causal, se hicieron pequeños cortes de tejidos del borde de la mancha y se tomaron porciones de tejidos sano y enfermo el cual se cultivó en cajas de Petri de 90 mm de diámetro con medio de cultivo V8-Agar estándar y se incubaron a oscuridad a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, por tres días. Finalmente fueron reaislados del borde de las colonias limpias, se pasaron a cajas Petri de 90 mm de diámetro con medio de cultivo V8-Agar estándar, por triplicado y se incubaron a oscuridad a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, por 10 días.

3.3.2. Aislamiento de *Phytophthora* a partir de muestras de suelo inoculado en mazorca de cacao sana

Las muestras de suelo se tomaron siguiendo la misma metodología usada por Frias, 1981. Este tipo de aislamiento sólo se realizó únicamente con las muestras del Soconusco Chiapas, debido a que no se encontraron mazorcas enfermas. Por lo anterior, se procedió aislar al patógeno del suelo empleando mazorcas en proceso de maduración, provenientes de las mismas plantaciones. Con este fin las mazorcas desinfectadas, se les hicieron perforaciones superficiales (sacabocados de 3 mm de diámetro) donde fueron inoculadas con 0.20 g de suelo. Las zonas de inóculo se cubrieron con un algodón húmedo estéril (Frías, 1981). Se incubaron a temperatura ambiente en cámaras húmedas. Una vez que se observó el desarrollo de manchas negras circulares, típicas de daño de *Phytophthora*, se procedió a aislar al patógeno con la metodología antes descrita.

3.3.3. Clonación de los aislamientos

Todos los aislamientos fueron resembrados en medio Agua-Agar selectivo con pimáricina 10 mg, ampicilina 20 mg, AMSA Laboratorios ®, 10 mg hidrocloreto de vancomina, SIGMA-ALDRICH®, por litro de medio de cultivo y filtrado, con filtro de 0.20 µm e incubados a 25±1°C por 48 h, con la finalidad de eliminar cualquier tipo de contaminante bacteriológico (Ortiz-García, 1996). De las colonias desarrolladas, se transfirieron a cajas Petri con medio V8 clarificado, siguiendo la técnica de clonación de “punta de hifa”. La obtención de hifas se realizó con un microscopio estereoscópico desinfectado, en una cámara de flujo laminar. Las cepas obtenidas por punta de hifas fueron identificadas con la clave CPC (Colegio de Postgraduados Cacao) seguidos por la letra M (Muestra) y el número que las diferencia. Todas las cepas y aislamientos madres fueron depositadas en el cepario del laboratorio de Fitopatología del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco.

3.3.4. Cepas de referencia

Adicionalmente, se emplearon dos cepas de *P. capsici* como referencias. La cepa 2c de compatibilidad A1 y la 3c de compatibilidad complementaria A2, aisladas de Chile, provenientes de Chihuahua, México que, fueron proporcionadas por la Dra. Silvia Fernández Pavía de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Estas cepas fueron empleadas en las

distintas pruebas de caracterización y fueron renombrados para la colección como CPCM2C y CPCM3C.

3.4. Caracterización fisiológica y morfológica de las cepas

3.4.1. Efecto de la temperatura sobre el desarrollo de las colonias

Para determinar el efecto de la temperatura sobre la tasa de crecimiento micelial (TCM), las cepas se sembraron en placas De Petri (90 x 12 mm) con medio V8, con cinco repeticiones y se incubaron a 15, 20, 25, 30 y 35 °C. Las evaluaciones del desarrollo radial de las colonias se realizaron cada 12 h. El crecimiento micelial se registró en cuatro radios horizontales previamente dibujados en el reverso de la caja Petri (Saldaña, 2002). La prueba finalizó hasta que una de las colonias llenó completamente la placa de Petri.

Con los datos tomados se estimó la tasa de crecimiento promedio (TCP) de cada una de las cepas; posteriormente se realizó la separación de los grupos mediante un análisis de varianza y pruebas de comparación de medias (Tukey) entre cepas y entre grupos separados. Los análisis estadísticos se hicieron con el paquete estadístico Statical Analysis System (SAS Institute, 1988).

3.5. Caracterización morfocultural de cepas

La identificación morfológica de los aislamientos de *Phytophthora* se realizó siguiendo los criterios de Stamps *et al.* (1990), para definir las especies. Así, se realizaron las descripciones de las estructuras de 30 cepas y dos cepas adicionales de *P. capsici* que se emplearon como referencias.

Las estructuras asexuales fueron obtenidas en medio de cultivo sólido de V8-clarificado en cajas Petri de 90 x 12 mm por triplicado y en placas inundadas con agua. Las placas fueron incubadas a temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante cuatro días oscuridad y expuestas a un fotoperiodo 12/12 h luz y oscuridad durante cinco días, con la finalidad de inducir la formación de las estructuras asexuales: micelio, esporangios y clamidosporas. En estos cultivos se determinaron las características cualitativas y cuantitativas del micelio, esporangios y clamidosporas para lo cual se hicieron preparaciones semipermanentes y poder observar 30 estructuras por tejido y para su diferenciación de acuerdo los criterios de (Saldaña, 2002) y las claves morfológicas de Stamp *et al.* (1990).

3.4.2. Morfología colonial

Las cepas fueron cultivadas por quintuplicado en cajas de Petri de cristal de 90 mm de diámetro, usando los medios de cultivos de V8-Agar estándar y agar, de acuerdo con Daniel *et al.* (2003), se incubaron a obscuridad durante tres días a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$. Una vez desarrolladas las colonias, se describieron la morfología de las colonias de acuerdo a las variables cualitativas como: forma de la colonia, color, la altura del micelio y tipo de márgenes, además de documentarlas fotográficamente.

3.4.3. Tipos de micelio y dimensiones

Para la observación de micelio se hicieron montajes semipermanentes y se determinaron las características del micelio como: grosor en micras (μm), tipo y aspecto. Las observaciones se realizaron en microscopio óptico 40x marca MOTIC[®] con cámara digital y software Motic de captura de imágenes.

3.4.4. Tipos de esporangios y dimensiones

La observación y medición microscópica de los esporangios en μm se realizaron con la preparación de placas semipermanentes con lactofenol blanco. Las mediciones de los esporangios de los aislamientos y cepas de referencia se realizaron con 30 estructuras por cada aislamiento, empleando un microscopio marca MOTIC[®], equipado con objetivo de 40x, cámara digital y software Motic de captura de imágenes. Las imágenes fueron, medidas con el software Imagen Tool[®] 3.00 para Windows. Las dimensiones registradas fueron el largo, ancho, se calculó la R/L (relación largo ancho) de ambas y promedio de estas estructuras; además de los tamaños de papilas, esporangios y largo de pedicelos. Todas las mediciones se realizaron bajo el objetivo de 10 y 40x, logrando un aumento total de 400x. Los datos fueron capturados en una base de datos de Excel donde se determinaron los intervalos, máximos, mínimos, promedios y la relación entre ellos. Asimismo, se registraron las formas de los esporangios y el número de la papila.

3.4.5. Formación de Clamidosporas, dimensiones y posición

Estas estructuras se caracterizaron igualmente con la ayuda de preparaciones semipermanentes. Asimismo, se realizaron mediciones del largo, ancho y grosor de pared de las clamidosporas.

Para posteriormente calcular la R/L. También se describió la posición de la clamidospora respecto al micelio.

3.5. Caracterización de estructuras sexuales

3.5.1. Tipo de compatibilidad sexual de las cepas de cacao

Todas las cepas en estudio se confrontaron con las cepas de referencia (A1 y A2) en placas Petri con medio nutritivo V8, Agar-zanahoria, Agar-ejote, Agar-avena y PDA. Las cajas fueron incubadas durante 15 días a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$, en oscuridad. La evaluación se realizó tomando muestras de la interface de contacto entre los dos aislados. De esta forma, las cepas que generaron oosporas con la cepa de referencia del tipo A2 se identificaron como aislados tipo A1. Por el contrario, los que indujeron oosporas con la cepa de referencia A1, se clasificaron como aislados tipo A2 y a los que no se les consideró estéril (Tooley *et al.*, 1989).

3.5.2. Formas de zoosporas y dimensiones

Para conocer las estructuras sexuales y sus dimensiones se siguió la metodología descrita por Ortiz-García, (1996). El método consistió en el apareamiento *in vitro* de cepas de cacao del tipo de compatibilidad A1 contra el tipo A2, incluyendo a las cepas referencia. El apareamiento se realizó en cajas Petri con medios de cultivo Agar-ejote y Agar-avena e incubados en oscuridad durante una semana a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ en una incubadora marca Prendo BB0116. Las observaciones se llevaron a cabo cuando hubo formación de las estructuras morfológicas de zoosporas. Con los cultivos formadores de oosporas se hicieron preparaciones en placas permanentes con lactofenol blanco. Las preparaciones fueron visualizadas con un microscopio óptico Marca Motic, con cámara digital y software Motic. La captura de imágenes con el objetivo de 40x de cada uno de los aislados. Posteriormente, se realizaron mediciones del largo por ancho y grosor de la oospora, oogonio y anteridio ancho por el alto, con el software Image Tool® 3.00 para Windows. Con las medidas obtenidas de cada una de las estructuras, se calcularon los promedios de cada uno de los aislamientos, tomando 30 oosporas por cepa.

3.6. Caracterización molecular

3.6.1. Extracción de ADNr

Para la extracción del ADNr se emplearon 33 cepas de *Phytophthora*, las cuales fueron aisladas a partir de mazorcas de cacao. El presente trabajo fue realizado en los Laboratorios de Fitopatología y de Biotecnología del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco.

La extracción de ADNr se realizó siguiendo la metodología descrita por Panabieres *et al.* (1989). En todos los casos, las centrifugaciones se llevaron a cabo en una microcentrifuga Eppendorff, a 12 000 rpm, durante cinco minutos, a temperatura ambiente.

El ADN fue extraído a partir de 250 mg de micelio cosechado. Las muestras fueron lisadas en un mortero con nitrógeno líquido, agregando 500 µl de regulador de NBI [NaCl 100 mM, Tris-HCl 30mM, pH 8.0, EDTA 10 mM, β-mercaptoethanol 10 mM] y NP 40 0.5% (v/v), la muestra fue homogenizada con la ayuda de un pistilo.

Las muestras se agitaron vigorosamente en vórtex durante 20 min y se centrifugaron a 12,000 rpm durante 5 minutos. Posteriormente se eliminó la fase acuosa. A continuación, el pellet fue resuspendido con 800 µl de regulador homogeneizador [NaCl 0.1 M, sucrosa 0.2 M, y EDTA 10 mM] y se agito en vórtex durante 20 segundos. Posteriormente se adicionaron 200 µl de regulador de lisis [EDTA 0.25 M, Tris 0.5 M, pH 9.2, SDS 2.5%] y se incubaron por 30 min a 55 °C.

Se agregó un volumen de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (50:48:2), y nuevamente se agitó en vórtex por 20 segundos y se centrifugó (12,000 rpm por 5 min). La fase acuosa se transfirió a un micro tubo nuevo; y se realizó un segundo paso de extracción con fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (50:48:2).

El sobrenadante fue recuperado y se precipitado con un volumen de éter frío (1000 µm), luego se agitó en vórtex durante 20 segundos y se centrifugó a 12,000 rpm durante 5 min. La fase acuosa fue transferida a un microtubo nuevo para realizar un segundo paso de extracción con éter frío.

El sobrenadante fue desechado y la fase acuosa fue precipitada con dos volúmenes de etanol absoluto. La muestra se incubó a -20°C durante dos horas y se centrifugó para eliminar el etanol residual, posteriormente se dejó evaporar completamente a temperatura ambiente.

El pellet de ADN se lavó con dos volúmenes de etanol al 75%, se centrifugó a 12,000 rpm durante 5 minutos, se eliminó el etanol por decantación y se dejó evaporar completamente a temperatura ambiente. Finalmente, el ADN se resuspendió en los 20 µl de agua ultra pura, se incubó a 50 °C durante 10 minutos y el ADN se almacenó a -20 °C

La concentración de ADN se determinó midiendo la absorbancia a 260 nm y considerando que 1U A₂₆₀ equivale a 50 µg/mL de ADN de doble cadena. La calidad de ADN se determinó por la relación de absorbancias A₂₆₀/A₂₈₀ (Sambrook *et al.*, 1989).

3.6.2. Amplificación del gen 18S ADNr por PCR

Se usó el gen 18S ADNr como blanco para la identificación molecular de las cepas aisladas. El gen 18S DNAr se amplificó empleando los oligonucleótidos iniciadores universales LV1 (oligo sentido; diseñado a partir de la secuencia de la cadena 5'-3') y LV2 (oligo antisentido; diseñado a partir de la secuencia de la cadena 3'-5') Cuadro 2 descritos por Bautista-Muñoz *et al.*, 2005. Las reacciones de PCR fueron llevadas a cabo con 10 ng del ADN molde, en un volumen final de 25 µL bajo la siguiente formulación: 16.3 µL de agua grado PCR, regulador de reacción 1X, MgCl₂ 2 mM, dNTPs 200 Mm, iniciadores 0.4 mM y 1U de Taq ADN polimerasa.

El ADN fue amplificado en un termociclador Techgene® con el siguiente programa: desnaturalización inicial a 94 °C por 5 minutos; 35 ciclos de una desnaturalización a 94 °C por 1 minutos; alineamiento a 67 °C por 1 minuto; y extensión a 72 °C por 1 minuto; y una extensión final a 72 °C por 5 minutos (Bautista-Muñoz *et al.*, 2005).

Cuadro 2. Oligonucleótidos iniciadores empleados en las reacciones de amplificación y secuenciación de un fragmento del gen 18S ADNr a partir del ADNr de los aislados de *Phytophthora*.

Oligonucleótido iniciador	Sentido	Secuencia (5'→ 3')	Ubicación en ADNr
LV-1	Reverse	CCTGCCAGTAGTCATATGCTTGTCT	18S Gen
LV-2	Forward	CACCTACGGAAACCTTGTTACGACT	18S Gen
F534	Forward	AGGGTTCGATTCCGGAGAG	18S Gen

3.6.3. Electroforesis en geles de agarosa

Los fragmentos de ADN amplificados fueron sometidos a electroforesis convencional en geles de agarosa, siguiendo el método descrito por Meyers *et al.* (1976). Se preparó un gel horizontal de agarosa al 1% en regulador TAE 1X (Tris Base 40 mM, ácido acético 20 mM y EDTA 1 mM). El corrimiento electroforético se llevó a cabo a 80 V, durante 1 h. El gel fue teñido con bromuro de etidio a una concentración de 0.05 µg/ml en regulador TAE 1X, durante 15 minutos. Finalmente, el gel fue expuesto a la luz UV /Vis (MiniBis, Bio Imaging Systems), para visualizar los fragmentos de ADN amplificados. El tamaño de los fragmentos amplificados se calculó por comparación con un marcador de ADN de talla molecular de 1000pb (Invitrogen) y con la ayuda del programa Sigma Gel quant versión 1.0 (Jandel Scientific Co., 1995).

3.6.4. Purificación de los fragmentos de ADNr amplificados

Los fragmentos de ADN amplificados fueron purificados empleando el kit QIAquick Gel Extracción de QUIAGEN (QUIAGEN Group, HmbH, Germany), siguiendo el protocolo recomendando por el fabricante. El ADN fue diluido con 45 µl de agua grado PCR.

3.6.5. Secuenciación del ADN purificado

Los productos de PCR purificado y enviado a secuenciar, con cada uno de los iniciadores LV1, LV2 y F534 forward (oligo antisentido; diseñado a partir de la secuencia de la cadena 3'-5'), a la unidad de Síntesis y Secuenciación de ADN del Instituto de Biotecnología de la UNAM, Cuernavaca, Morelos, México. Las secuencias de DNA fueron analizadas, editadas y ensambladas con el software BioEdit Sequence Alignment Editor, versión 7.2.6. Las secuencias ensambladas fueron alineadas con secuencias de genes homólogos de especies depositadas en la base de datos del NCBI (National Center for Biotechnology Information; www.ncbi.nlm.nih.gov).

3.6.6. Alineamiento múltiple de secuencias de genes 18S ADNr descritos en hongos.

Las secuencias obtenidas con los oligonucleótidos iniciadores mencionados en el cuadro 2, fueron editadas y ensambladas con el software BioEdit Sequence Alignment Editor, versión 7.2.6. La secuencia de ADN parcial obtenida fue comparada mediante la herramienta BLAST con las secuencias nucleotídicas codificantes de genes 18S ADNr de hongos descritos y depositados

en la base de datos de la NBCI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Los aislamientos fueron identificados a nivel de especie por arriba de un 98% de secuencias similares a las secuencias de especies registradas en el NBCI. Posteriormente, todas las secuencias nucleotídicas fueron alineadas empleando el software CLUSTAL X Versión 2.0.11 (Thompson *et al.*, 1997).

3.6.7. Construcción de árbol de similitudes entre las secuencias de genes 18S ADNr de las cepas de *Phytophthora* aisladas y descritos.

Se efectuaron cinco alineamientos múltiples consecutivos y el último alineamiento se usó para establecer un árbol de similitudes con el programa MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) versión 7.0.21 (Tamura *et al.*, 2013) utilizando el método de agrupamiento de Neighbour-joining con el índice Poisson (P) y se valoró estadísticamente para lo cual se hicieron 1000 aleatorizaciones tipo “bootstrap”. Con base a la organización del dendrograma filogenético se determinó la especie del género *Phytophthora* asociada a los aislamientos de MNC.

IV. RESULTADOS

4.1. Colecta y aislamientos de *Phytophthora* de los cacaotales

Durante el período de noviembre 2014 a noviembre 2015 se lograron 34 aislamientos del mismo número de plantaciones de cacao de Tabasco y Chiapas. En esta prospección se consideró que se captó la variabilidad del patógeno, debido a que se integraron las regiones con las condiciones ecológicas de las plantaciones cacaoteras de las subregiones de la Chontalpa, Centro y Sierra de Tabasco y las regiones del Soconusco y Sierra norte en Chiapas, que forman parte del sureste de México.

Todas las colonias de *Phytophthora*, desarrolladas en medio V8 fueron evidentes a partir de las 24 horas después de la siembra, un crecimiento típico y rápido de este pseudohongo, su crecimiento micelial radial llenó la caja Petri a los cuatro días. Las colonias presentaron un crecimiento circular tipo petaloide, en forma de flor, con micelio denso, bajo o elevado (Figura 4).



Figura 4. Aislamientos madre de *Phytophthora* a partir de mazorcas de cacao (izquierda); cepa pura en cultivo monosporico (derecha). Fotos: Yansi Karina Ramos Grajales.

Cuadro 3. Cepas de *Phytophthora* aisladas de fruto de cacao y suelo, en el sureste de México, por clave, origen geográfico, incluyendo geoposicionamiento, estado (Tabasco y Chiapas), municipio y localidad.

No	Clave de colección	Aislado de	Latitud	Longitud	Estado	Municipio	Localidad
1	CPCM01	Mazorca	17°43'29"	93°22'97.3"	Tabasco	Huimanguillo	Rafael Mtz. de E.
2	CPCM02	Mazorca	17°34'53.78"	93°10'38.90"			Pejelagartero
3	CPCM03	Mazorca	17°43'26.9"	93°22'97.3"			Macayo
4	CPCM04	Mazorca	17°38'38.82"	93°24'03.33"			Ostitan
5	CPCM05	Mazorca	17°51'44.1"	93°23'13.3"			Desecho
6	CPCM06	Mazorca	18°01'93"	93°21'71.3"		Cárdenas	Melchor Ocampo
7	CPCM07	Mazorca	18°10'46.02"	93°31'34.63"			Km 21
8	CPCM08	Mazorca	18°13'13.03"	93°12'54.06"		Comalcalco	Morrallero
9	CPCM09	Mazorca	18°12'34.95"	93°22'04.49"			Las arenas 2da sección
10	CPCM10	Mazorca	18°20'16.00"	93°14'20.64"		Paraíso	Occidente 2da sección
11	CPCM11	Mazorca	18°24'27.12"	93°14'28.10"			Arrinconada
12	CPCM12	Mazorca	18°08'41.00"	93°02'55"		Jalpa	Nabor Cornelio Á.
13	CPCM13	Mazorca	18°07'57.18"	93°10'12.36"			Galeana 2da sección
14	CPCM14	Mazorca	18°07'46.7"	93°09'29.1"		Cunduacán	Huimango
15	CPCM15	Mazorca	18°01'40.68"	93°21'23.04"			Mantilla
16	CPCM16	Mazorca	18°05'58.25"	93°20'14.45"			Los pinos
17	CPCM17	Mazorca	18°01'74.8"	93°21'69.3"		Teapa	Yoloxochil
18	CPCM18	Mazorca	17°31'38.79"	92°55'44.65"			Puyacatengo
19	CPCM19	Mazorca	17°23'46.25"	92°45'21.24"		Tacotalpa	Col. Nueva B. Vista
20	CPCM20	Mazorca	17°23'09.23"	92°44'24.41"			Col. Nva Reforma
21	CPCM21	Mazorca	17°26'49.64"	92°49'00.23"	Cerro Blanco		
22	CPCM22	Mazorca	17°21'02.40"	92°43'34.97"	Col. Xotal		
23	CPCM23	Mazorca	17°33'10.56"	93°18'18.15"	Chiapas	Pichuacalco	Platanar arriba
24	CPCM24	Mazorca	17°33'48.40"	93°16'18.21"			Volcánica
25	CPCM25	Mazorca	17°34'55.00"	93°20'88"		El paraíso Sta Martha	
26	CPCM26	Mazorca	17°31'16.50"	93°20'25.18"		Zaragoza arriba	
27	CPCM27	Mazorca	17°31'09.48"	93°20'11.72"		Zaragoza abajo	
28	CPCM28	Mazorca	17°25'16.43"	93°20'14.78"		Ostuacán	La bomba
29	CPCM29	Mazorca	17°24'00.11"	93°19'44.37"			Francisco León
33	CPCM33	Suelo	15°06'520"	92°26'389"	Tuxtla Chico	Tunzantan	
34	CPCM34	Suelo	14°58'434"	92°09'433"		Rosario Izapa	

CPC (Colegio de Postgraduados Cacao) seguidos por la letra M (Muestra) y el número que las diferencia.

4.2. 1. Caracterización fisiológica y morfológica

4.2.2. Efecto de la temperatura sobre el desarrollo de las colonias

Los resultados promedios del desarrollo de los aislados se representaron en el Cuadro 4, mismos que permitieron compararse con los promedios de las tasas de crecimiento cada 12 horas a 15, 20, 25, 30 y 35°C.

Las colonias de cada aislamiento sometidos a las diferentes temperaturas, mantuvieron patrones de crecimiento promedio consistente (Cuadro 4). Con base en los distintos comportamientos de la tasa de crecimiento, en las distintas temperaturas evaluadas, se lograron integrar en cuatro grupos.

Se midió las tasas de crecimiento radial promedio (TCR) para agrupar cada una de las cepas estudiadas y caracterizarlas fisiológicamente de acuerdo al desarrollo promedio presentada en cada una de los aislados en estudio.

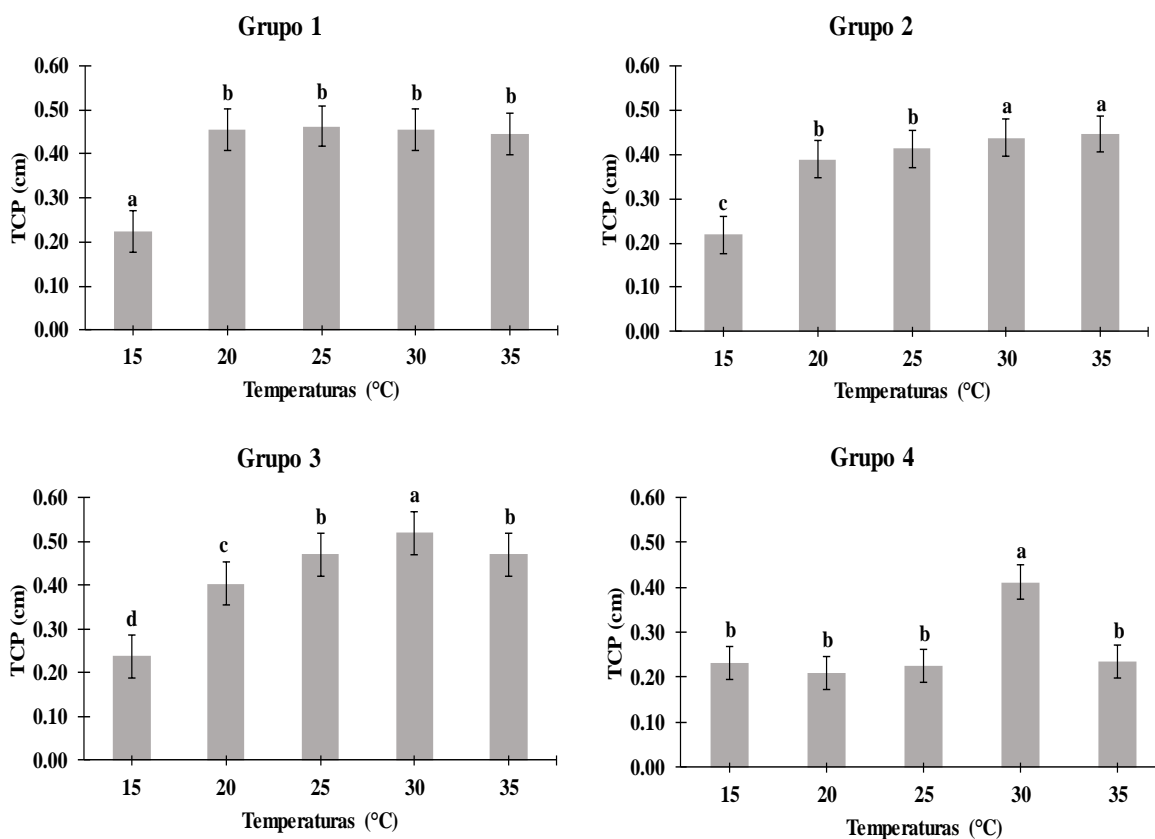


Figura 5. Crecimiento promedio de aislamientos de *Phytophthora* agrupados por su forma de desarrollo, al ser sometidos a diferentes temperaturas.

El primer grupo se integró con 11 cepas: CPCM01, CPCM02, CPCM04, CPCM07, CPCM09, CPCM10, CPCM12, CPCM13, CPCM18, CPCM23 y CPCM26. El patrón de crecimiento se representa en la gráfica de la Figura 5 Grupo1 donde el máximo crecimiento de los aislados se mantiene estable en las temperaturas de 20, 25, 30 y 35 °C.

En el segundo grupo se forma con 10 de los aislados y la cepa de *P. capsici* (CPCM03; CPCM08; CPCM11; CPCM15, CPCM19; CPCM20, CPCM21, CPCM24, CPCM25, CPCM29, y CPCMA1). Que presentaron una tasa de crecimiento máxima constante a temperaturas de 25, 30 y 35°C (Figura 5; Grupo 2).

El tercer grupo se formó con ocho de los aislados y la cepa de *P. capsici* CPCM05, CPCMC06, CPCM14, CPCM16, CPCM17, CPCM22, CPCM28, CPCM34 y CPCMA2 donde la tasa máximo crecimiento de los aislados se mantiene estable en las temperaturas de 20, 25 y 30 disminuyendo significativamente a 35 °C (Figura 5; Grupo 3).

Por último, el cuarto grupo se integró únicamente con el aislado CPCM27, los cuales no mostraron ninguna relación con los grupos anteriores, cuyo máximo crecimiento se presentó a 30°C (Figura 5; Grupo 4).

Hay que destacar que todos los aislamientos caracterizados a temperaturas de 15°C mostraron una tasa de crecimiento menor a las otras temperaturas evaluadas incluida las de 35 °C; que mostraría la adaptabilidad a altas temperaturas como se registra para *P. capsici* y *P. tropiclaeis*.

Cuadro 4. Tipo de colonia, intervalo de temperatura de máximo crecimiento y tasa de crecimiento micelial por cada 12 h, de los aislados obtenidos a partir de mazorcas de cacao.

Cepa	Tipo de colonia	Intervalo de Temperatura de crecimiento máximo	Tasa de Crecimiento * (12 h)				
			15°C	20°C	25°C	30°C	35°C
CPCM01	R	20-30	1.58	3.27	3.40	3.51	3.21
CPCM02	R	20-30	1.58	2.09	2.91	3.58	2.91
CPCM03	A	25-30	1.29	2.54	3.31	3.30	3.34
CPCM04	R	20-30	1.67	3.46	3.40	3.74	3.31
CPCM05	R	25-30	1.70	3.53	3.06	3.74	3.26
CPCM06	F	30-35	1.71	3.19	3.61	4.36	3.66
CPCM07	R	30-35	1.63	3.41	3.37	3.07	3.53
CPCM08	R	25-35	1.67	2.67	3.16	3.16	3.36
CPCM09	R	20-25	1.56	2.74	3.23	2.90	3.06
CPCM10	F	20-25	2.10	3.35	3.44	3.46	2.66
CPCM11	R	20-35	1.49	3.05	3.17	3.67	3.38
CPCM12	R	25-35	1.61	2.87	3.03	3.39	3.46
CPCM13	R	30-35	0.94	2.66	3.08	3.14	3.24
CPCM14	R	25-30	1.82	2.47	3.91	4.22	3.56
CPCM15	R	20-35	1.52	3.28	2.84	2.54	2.54
CPCM16	F	25-30	1.80	2.24	3.52	4.20	3.74
CPCM17	F	30	1.54	2.14	3.16	3.85	3.27
CPCM18	R	20-30	1.36	2.67	2.08	2.99	2.73
CPCM19	R	20-35	1.62	3.01	2.69	2.97	3.16
CPCM20	R	20-30	1.70	3.11	2.83	3.51	3.18
CPCM21	R	20-35	1.38	3.11	2.30	3.16	3.21
CPCM22	R	30-35	1.52	3.01	2.96	3.37	3.57
CPCM23	R	20-30	1.45	3.13	3.01	3.87	3.23
CPCM24	F	25-35	1.86	2.55	3.05	3.56	3.24
CPCM25	A	25-30	1.39	2.22	3.08	2.90	2.09
CPCM26	R	20-30	1.74	3.34	3.34	3.19	2.04
CPCM27	A	30	1.62	1.46	1.84	3.08	1.64
CPCM28	R	20-30	1.46	3.22	2.21	3.81	2.89
CPCM29	R	25-35	1.61	2.56	3.03	3.24	3.30
CPCM34	R	20-30	1.59	3.02	3.13	3.51	3.56
CPCM2C	R	25-30	1.24	1.84	2.61	2.60	2.18
CPCM3C	R	25-30	1.81	2.44	3.87	3.13	1.75

*valores expresados en cm; Colonia tipo flor o petaloide (F); Colonia radial (R); Algodonosa (A).

4.2.3. Caracterización morfocultural de cepas

4.2.4. Tipos de colonias

Las cepas evaluadas fueron agrupadas de acuerdo a la forma de la colonia incluyendo las dos cepas de referencia. Así, tres patrones de crecimiento colonial fueron identificados, tomando en cuenta el micelio aéreo, borde de la colonia y aspecto radial

Algunas cepas mostraron cambios en el color, de blanco a colores amarillos claros. El periodo de crecimiento para la mayoría de las cepas fue de 4 días para el llenado de caja y alcanzaron un promedio de crecimiento radial de 3.4 cm. Así, las cepas se repartieron en tres grupos morfológicos (Figura 5).

El primer grupo de aislados, con 15 aislamientos, presentaron micelio blanquecino a amarillento, dando lugar a una colonia tipo "radial", con micelio aéreo abundante y homogéneo, colonia ligeramente aplanada con bordes de forma lobulada (Figura 5 B). Los aislados que presentaron este tipo son: CPCM01, CPCM02, CPCM04, CPCM05, CPCM07, CPCM08, CPCM09, CPCM11, CPCM12, CPCM13, CPCM14, CPCM15, CPCM18, CPCM 19, CPCM 20, CPCM 21, CPCM 22, CPCM26, CPCM28, CPCM29, CPCM34, CPCMA1 y CPCMA2.

El segundo grupo quedó conformado por 3 aislados (CPCM03, CPCM25 y CPCM27) que presentan colonias de color blanco, con abundante micelio aéreo, algodonoso y crecimiento uniforme sin patrón de crecimiento definido, pero si con bordes ovoides o ligeramente lobulada (Figura 5 A).

El tercer grupo quedó conformado por 6 aislados: CPCM06, CPCM10, CPCM16, CPCM17, CPCM23 y CPCM24 que formaron colonias blancas de tipo "petaloide", micelio aéreo homogéneo de borde lobulado (Figura 5 C). En las observaciones realizadas con el microscopio invertido, todos los aislados presentaron micelio cenocítico muy ramificado.

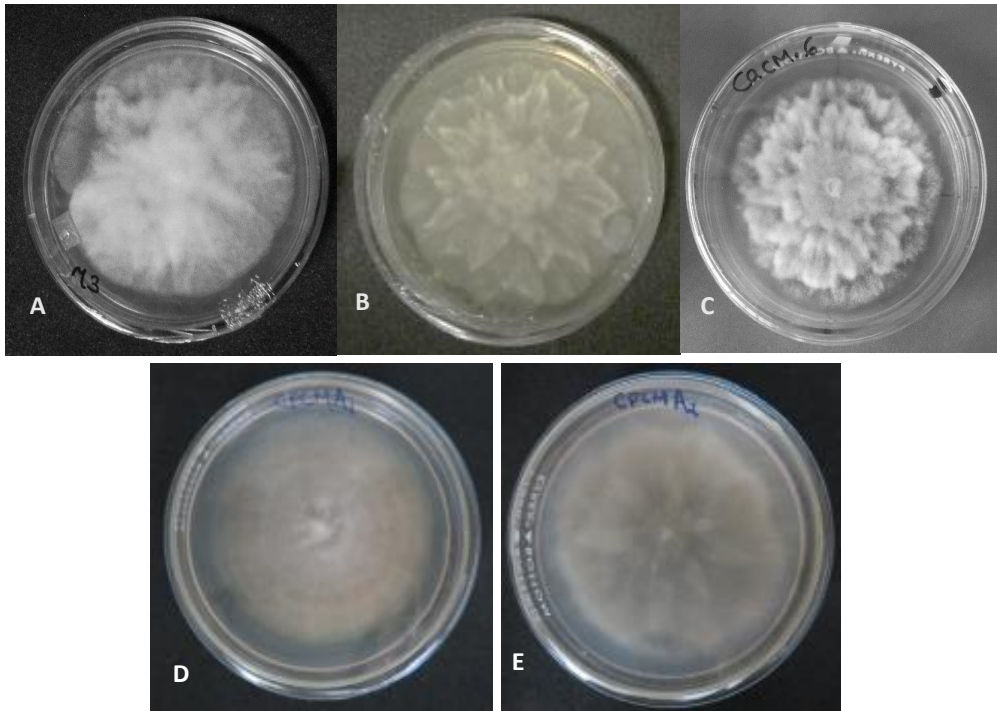


Figura 5. Patrones de crecimiento de colonias de *Phytophthora* aisladas de fruto de cacao, después de 96 h de incubación a 25 ° C, en medio V8: algodónosa aérea (A) representativo del grupo dos; estrellado con micelio bajo compacto representativo del grupo uno (B); petaloide aéreo algodónoso representativo del grupo tres(C); D y E colonias de cepas de referencia.

4.2.5. Tipos de micelio y dimensiones

Todas las cepas presentaron desarrollo de micelio cenocítico, sólo los aislados CPCM27, CPCM16 y CPCM17 mostraron micelio turuloso. Las cepas con micelio liso y grueso presentaron un rango de 5-7 μm de ancho (Figura 6).

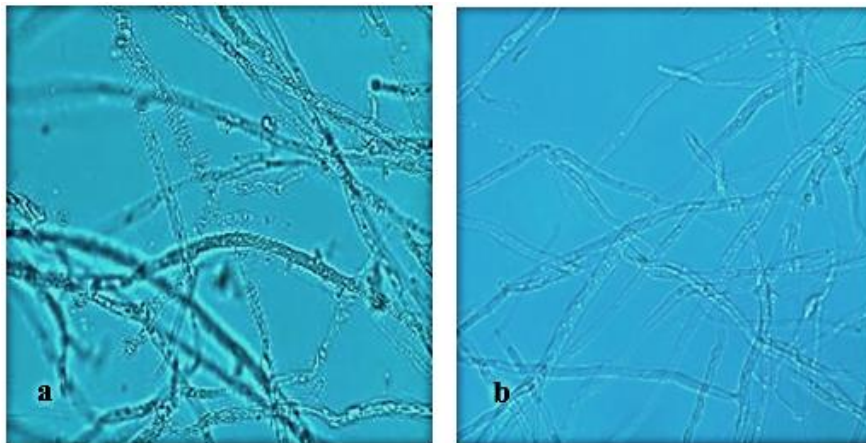


Figura 6. Tipos de micelio de los aislados de *Phytophthora*, micelio toruloso (a) y; micelio liso y grueso (b).

4.2.6. Tipo de esporangios y dimensiones

Los esporangios mostraron formas variadas en los que destacaron formas casi esféricas a elípticas y globosas. Sin embargo, todos fueron caducos y predominantemente papilados, con base estrecha y pedicelos largos (Figura 7).

En la Cuadro 5 se describen las dimensiones de los esporangios de todos los aislamientos de *Phytophthora*. En ella se reúnen las características cuantitativas promedios de 30 esporangios como: largo, ancho, relación largo /ancho, tamaño de las papilas y longitud de los pedicelos de los esporangios.

Los esporangios fueron ramificados en forma individual, con pedicelos deciduos largo. En promedio, los rangos de las dimensiones de largo y ancho de los esporangios fueron de 28.07 x 18.17 μm y de 50.41 x 27.30 μm y papila de 4.02-5.63 μm , (L/A) de 1 μm . Las cepas usadas como referencia mostraron tener papilas más grandes, particularmente el aislado CPCM2C con un tamaño de 6.09 μm .

De acuerdo con los criterios de caracterización de Martin *et al.* (2012) se pudieran considerar algunos aislados como semipapilados, es decir, que presentaron promedios de papilas menores a 3.5 μm , como en los casos de los aislados CPCM01 Y CPCM10; de igual manera presentaron una relación largo/ancho de esporangio menor en comparación con los otros aislados. Las formas de los esporangios presentaron diferencias, siendo ligeramente más redondeados y más pequeños (Figura 8); por lo tanto, el pedicelo también fue más corto en el caso de la cepa CPCM10.

Los aislados CPCM06, CPCM13 y CPCM24 mostraron características más específicas: pedicelos largos, esporangios con papilas conspicuas, generalmente una, formando grupos de esporangios en arreglo tipo umbela. Las formas de esporangio uniformes, obovado, con tamaño promedio de largo 44.62 x 26.83 μm ; ancho 46.29 x 21.30 μm ; 48.97 x 23.05 μm y con bases cónicas rectas del esporangio previa al pedicelo los caracterizaban. Intervalo en forma de tamaño de 34-13 μm de diámetro (Figura 9), con una relación de longitud: anchura mucho más diferente en comparación con los otros aislados de 1.66-2.17 μm .

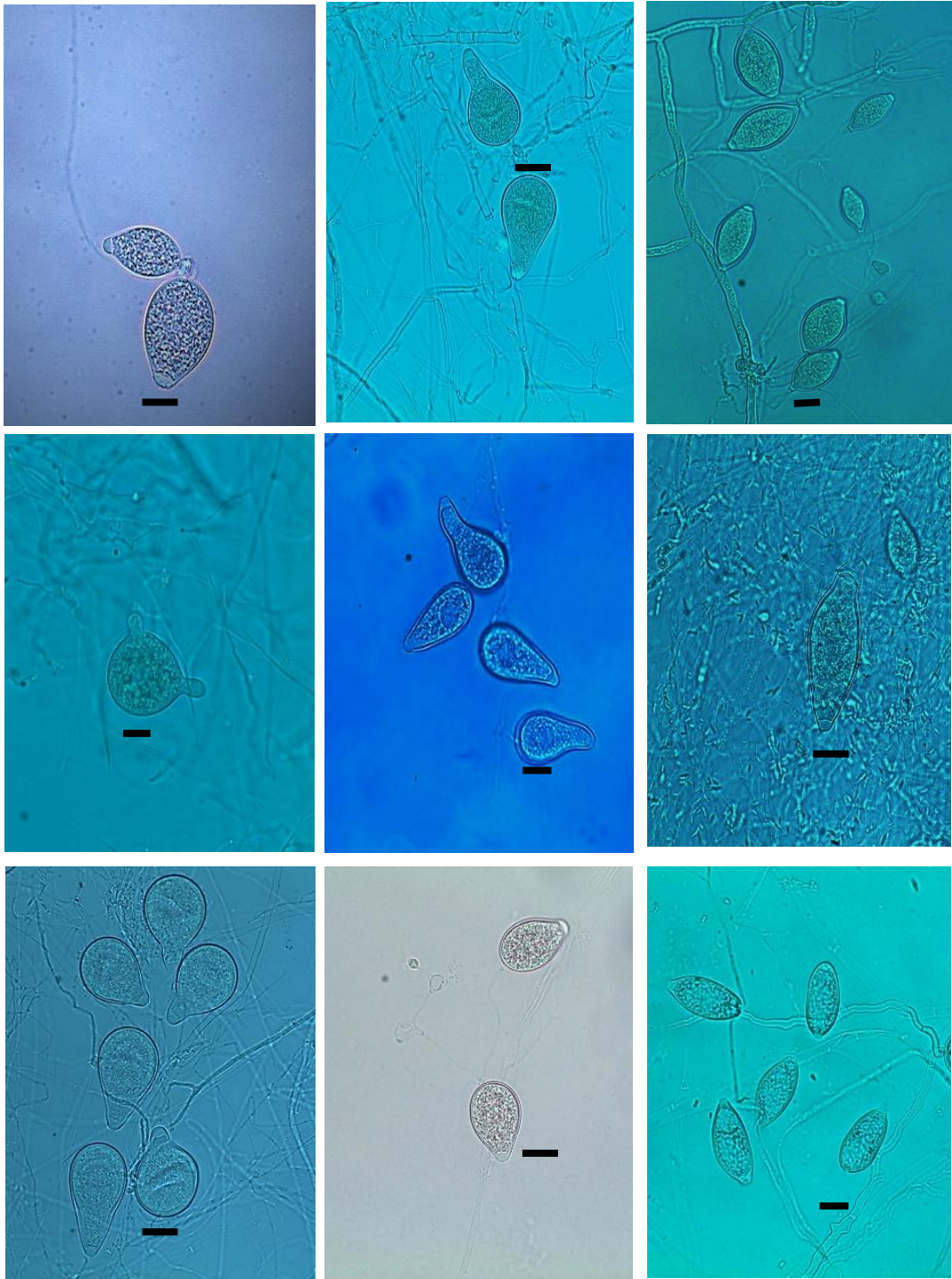


Figura 7. Forma de esporangios de aislados de *Phytophthora* de aislamientos de mazorcas de cacao observados a 40x. Esporangios ovoides elípticos, cuellos largos y papilados, libres e individuales, semirredondeados, con papila prominente. (Bar =10 μ m).

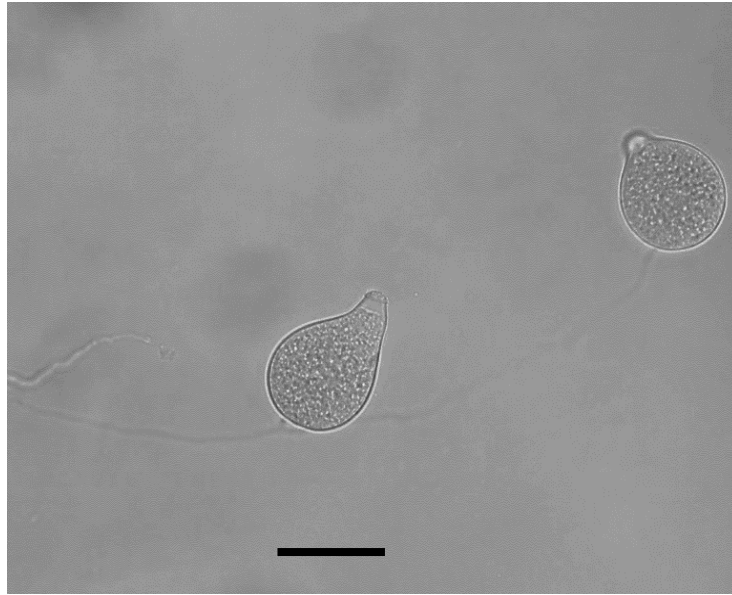


Figura 8. Esporangios pequeños, representativos de los aislados CPCM01 y CPCM10, con arreglo simple aparentando un tipo simpodio. (Bar = 10 μ m).

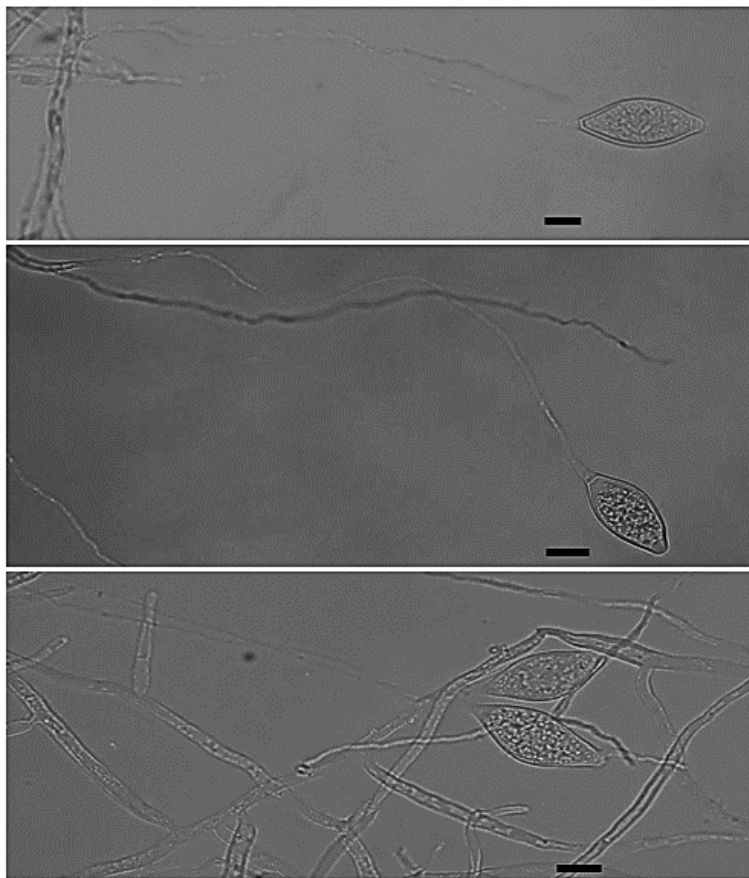


Figura 9. Esporangios en formas elipsoidales, base cónica, pedicelo largo en arreglo tipo umbela, típica de los aislamientos CPCM06, CPCM13 y CPCM24). (Bar = 10 μ m).

Cuadro 5. Características morfológicas de aislamiento de *Phytophthora* de cacao correspondiente a 30 estructuras asexuales.

Cepa	Esporangio				Papila		Pedicelo	
	Promedio	Intervalo	Intervalo	R L/A	Promedio	Rango	Promedio	Rango
	L/A	L	A		L			
CPCM01	13.05x10.68	19 – 9	13 - 8	1.13	1.816	2.7-0.9	17.00	65-02
CPCM02	28.07x18.17	34-22	20-13	1.54	3.157	3.8-2.5	71.71	78-60
CPCM03	39.24x24.35	59-25	32-14	1.61	4.159	5.6-2.4	64.71	162-12
CPCM04	37.87x26.53	56-25	35-15	1.42	4.029	5.8-2.0	157.1	425-36
CPCM05	39.84x26.39	49-10	33-16	1.50	3.997	5.2-2.3	58.12	97-09
CPCM06	44.62x26.83	61-31	32-19	1.66	5.104	6.9-3.3	69.39	198-08
CPCM07	44.25x26.48	61-24	32-14	1.67	4.810	6.9-2.2	69.90	187-08
CPCM08	41.65x27.44	61-28	33-17	1.51	5.274	8.2-2.8	76.48	174-12
CPCM09	32.19x22.56	45-25	32-16	1.42	4.178	5.4-2.2	48.19	285-9
CPCM10	12.46x11.15	15 – 8	14- 7	1.11	1.921	2.9-1.3	27.16	69–01
CPCM11	37.41x28.94	45-27	38-19	1.29	4.592	3.6-3.0	37.26	101-06
CPCM12	33.48x25.43	43-20	32-14	1.31	4.204	6.2-2.3	52.84	98-07
CPCM13	46.29x21.30	163-26	34-13	2.17	4.408	5.8-2.3	156.6	306-23
CPCM14	34.56x25.07	53-18	32-14	1.37	4.535	6.3-2.3	68.57	239-13
CPCM15	49.97x28.39	82-25	77-19	1.75	5.636	9.7-3.7	58.92	207-03
CPCM16	50.41x27.30	123-24	45-19	1.84	5.619	8.8-2.8	47.36	100-05
CPCM17	34.77x18.57	45-16	40-12	1.87	3.727	5.7-2.1	168.7	284-31
CPCM18	42.94x26.78	61-21	33-14	1.60	4.731	33-18	61.07	33-18
CPCM19	40.47x26.68	34-17	36-18	1.51	5.521	6.6-2.5	86.12	160-03
CPCM20	34.12x24.93	46-25	29-19	1.36	4.193	6.1-2.9	81.75	161-40
CPCM21	36.27x28.07	45-21	44-15	1.29	4.464	6.3-2.1	87.52	171-26
CPCM22	38.71x25.44	56-23	44-15	1.52	4.489	8.1-2.7	55.61	181-04
CPCM23	47.19x26.22	68-30	34-17	1.79	4.916	8.0-2.0	79.89	160-45
CPCM24	48.97x23.05	65-30	31-17	2.12	5.380	7.4-1.5	75.75	195-06
CPCM25	33.31x26.48	41-21	34-15	1.25	4.344	8.0-2.5	74.89	179-07
CPCM26	36.21x26.53	46-27	34-20	1.36	4.933	6.4-3.5	48.65	92-08
CPCM27	38.46x24.54	69-21	39-13	1.56	4.568	6.6-1.8	68.88	164-12
CPCM28	40.22x25.24	56-21	34-14	1.59	4.563	7.0-2.2	55.41	161-06
CPCM29	42.24x25.27	61-33	36-20	1.67	5.036	6.7-4.2	88.31	161-55
CPCM34	34.21x21.61	50-20	33-16	1.58	4.297	6.6-2.1	107.5	224-17
CPCM2C	47.49x35.52	61-31	60-27	1.33	6.091	8.5-3.5	104.8	232-27
CPCM3C	41.41x24.94	57-21	33-15	1.65	4.714	6.5-2.2	70.43	145-11

NOTA: Dimensión (μ); n=30; Promedio del largo entre el ancho (L/A); largo (L); Ancho (A); Relación Largo/Ancho (RLA).

4.2.7. Formación de clamidosporas, dimensiones y posición

La formación de las clamidosporas sólo se presentó en 15 de los 32 aislamientos y en número reducido. Estas estructuras se presentaron de manera terminal e intercalar (Figura 10) y fueron regularmente de forma esférica y con pared gruesa. Las medidas descriptivas promedio, por aislamiento se registran en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Medidas de las características morfológicas correspondientes a clamidosporas.

Clamidosporas						
Cepa	Promedio	Intervalo	Intervalo		G P	Posición
Claves	L/A	L	A	R L/A		
CPCM01	29.63x29.69	37-22	36-22	0.99	1.60	T/I
CPCM03	25.65x25.08	32-19	32-20	1.02	2.33	T/I
CPCM05	24.77x25.02	29-21	30-20	0.99	2.18	T
CPCM07	25.25x24.97	32-18	31-18	1.01	3.41	T
CPCM08	24.47x24.97	26-22	28-22	0.97	2.13	T/I
CPCM10	27.57x27.54	33-20	33-20	1.00	2.26	T
CPCM17	24.97x25.26	30-19	34-20	0.98	2.40	T
CPCM18	26.99x26.67	33-18	33-18	1.01	2.80	T
CPCM19	28.41x28.74	34-17	36-18	0.98	2.19	T/I
CPCM22	26.66x26.51	32-17	30-18	1.00	2.25	T/I
CPCM23	30.56x30.66	36-23	36-25	0.99	2.61	T
CPCM24	30.16x30.55	32-26	33-26	0.98	2.68	I
CPCM25	24.20x23.08	28-18	29-18	1.04	1.99	T/I
CPCM29	25.85x24.51	30-22	29-22	1.05	2.39	T
CPCM34	29.35x28.95	39-20	34-19	1.01	2.14	I
CPCM3C	22.54x22.52	25-19	25-19	1.00	1.56	T/I

Posición de la clamidospora terminal (T); Intercalar (I).

El promedio del grosor de la pared de las clamidosporas, de la mayoría de los aislados, fue de 1.60 a 2.80 μm , excepto por, el aislado CPCM07 el cual presento, un promedio de 3.41 μm , lo cual es una pared gruesa en comparación a los otros aislados; además, de ser la única cepa con abundante formación de clamidosporas.

Los aislados CPCM02, CPCM04, CPCM06, CPCM09, CPCM11, CPCM12, CPCM13, CPCM14, CPCM15, CPCM16 CPCM20, CPCM21, CPCM26, CPCM27, CPCM28 y CPCMA1 no mostraron presencia de clamidosporas o no fueron significativas para su medición.



Figura 10. Clamidosporas de *Phytophthora* de aislados de cacao de acuerdo a su posición: forma terminal (a) y forma intercalar en el micelio (b). (Bar=10 μm).

4.3. Caracterización de estructuras sexuales

En el Cuadro 7 se muestran las respuestas de los estímulos sexuales de las cepas, en función al medio de cultivo, el Agar-Ejote fue el más efectivo, aceleró la formación de oosporas hasta en una semana y el número de cepas se para la formación de estas estructuras registraron en este medio

4.3.1. Tipo de compatibilidad sexual de las cepas de cacao

Se presentan los tipos de compatibilidad sexual de las cepas problema (Cuadro 7) como A1 y A2. La determinación fue realizada con una serie de 30 cepas confrontada a dos cepas de *P. capsici* (Figura 11). Así, se determinó que el 90% de las cepas correspondieron al tipo de compatibilidad A1, mientras que el 10% de los aislados correspondieron al tipo de

compatibilidad A2. Mostrando las características heterotálicas de las cepas. Sin embargo, los cruzamientos entre las cepas problemas obtenidas de cacao, previamente identificados con compatibilidad sexual de A1 o A2, resultaron negativas. El apareamiento realizado entre las dos cepas de referencia con los diferentes aislados evidenció la existencia de los tipos A1 y A2 predominando uno sobre el otro.

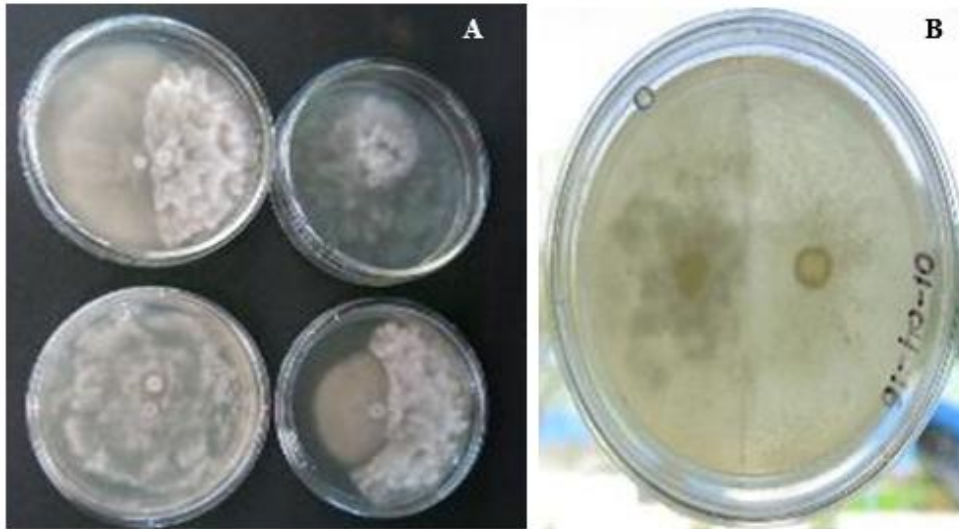


Figura 11. Desarrollo de colonias de las cepas confrontadas *in vitro* con las cepas de referencia: confrontación en medios de cultivo V8 clarificado. Colonias duales (*P. capsici* izquierda y *Phytophthora* aisladas de cacao, derecha) (A) y colonia dual de la confrontación de dos cepas de *Phytophthora* aisladas de cacao (B).

Cuadro 7. Desarrollo de colonias en diferentes medios de cultivos y tipo de compatibilidad de las cepas.

Cepas	Medios de cultivo					*	+
	Jugo-V8	PDA	Agar-Zanahoria	Agar-avena	Agar-Ejote		
CPCM01				b		A1	ST
CPCM02					b	A1	ST
CPCM03				b	b	A2	ST
CPCM04					b	A1	ST
CPCM05					b	A1	ST
CPCM06					b	A1	ST
CPCM07					b	A1	ST
CPCM08					b	A1	ST
CPCM09	a				b	A1	ST
CPCM10					b	A1	ST
CPCM11	a					A1	ST
CPCM12					b	A1	ST
CPCM13					b	A1	ST
CPCM14					b	A1	ST
CPCM15						A1	ST
CPCM16					b	A1	ST
CPCM17					b	A1	ST
CPCM18					b	A1	ST
CPCM19					b	A1	ST
CPCM20					b	A1	ST
CPCM21	a					A1	ST
CPCM22					b	A1	ST
CPCM23					b	A1	ST
CPCM24					b	A2	ST
CPCM25				b	b	A1	ST
CPCM26		c			b	A1	ST
CPCM27	a	c				A2	ST
CPCM28	a	c				A1	ST
CPCM29		c			b	A1	ST
CPCM34						A2	ST
CPCM2C	a	c	c	b	b	A1	A1
CPCM3C	a	c	c	b	b	A2	A2

a: Formación de estructuras sexuales: 30 días muy pocas; (b) 7 días abundantes; (c) 37 días pocas; Compatibilidad (*); Compatibilidad entre cepas de cacao por cacao (+); ST (Estéril).

4. 3. 2. Forma y dimensiones de las oosporas

Las 30 cepas de *Phytophthora* aisladas a partir de cacao fueron confrontados con las cepas de referencia de *P. capsici* A1 y A2 en el ensayo de compatibilidad sexual. Sin embargo, solo se le hicieron mediciones a las oosporas formadas en la parte media de contacto de ambas cepas o del lado de la cepa problema. Lo anterior, debido a que se observó que en muchos de los ensayos de confrontación las oosporas se formaron del lado de la cepa referencia, lo que implica que estas reciben el estímulo complementario de la cepa de cacao, pero, no estaban aparentemente produciendo sus propias oosporas.

En el Cuadro 8 presentan los resultados de las mediciones de 30 oospora, anteridio y oogonio por aislado. Este ensayo nos permitió determinar que las cepas son heterotálicas, ya que ninguna cepa produce oosporas de manera individual sin embargo si en la confrontación con *P. capsici*. Las oosporas de *P. capsici* se caracterizaron por presentar oogonios hialinos circulares y lisos con anteridio anfígenos (Figura 12 A). Por otro lado, las cepas de *Phytophthora* de frutos cacao, sus oosporas fueron, con características más específicas, las estructuras sexuales presentes en algunos aislados de cacao (ej. CPCM03) se encontraron ornamentaciones alrededor del oogonio de forma granulada a diferencia de otros aislados (ej. CPCM27) que se observaron paredes coloridas de amarillo a naranja en el oogonio (Figura 12 D).

Las dimensiones del oogonio fueron: diámetros de 40.20 x 38.45 μm - 34.30 x 35.95 μm y de formas esférica. Las oosporas igualmente de forma esférica pleróticas mostraron un promedio de diámetro 26.08 x 25.99 μm 31.61x32.33 μm ; y con pared de 1.75-3.52. Los anteridios para todos los aislados fueron anfígeno y ligeramente redondeados de 14-10 μm a 21-10 μm , Además de presentar un apéndice basal (Figura 12 C).

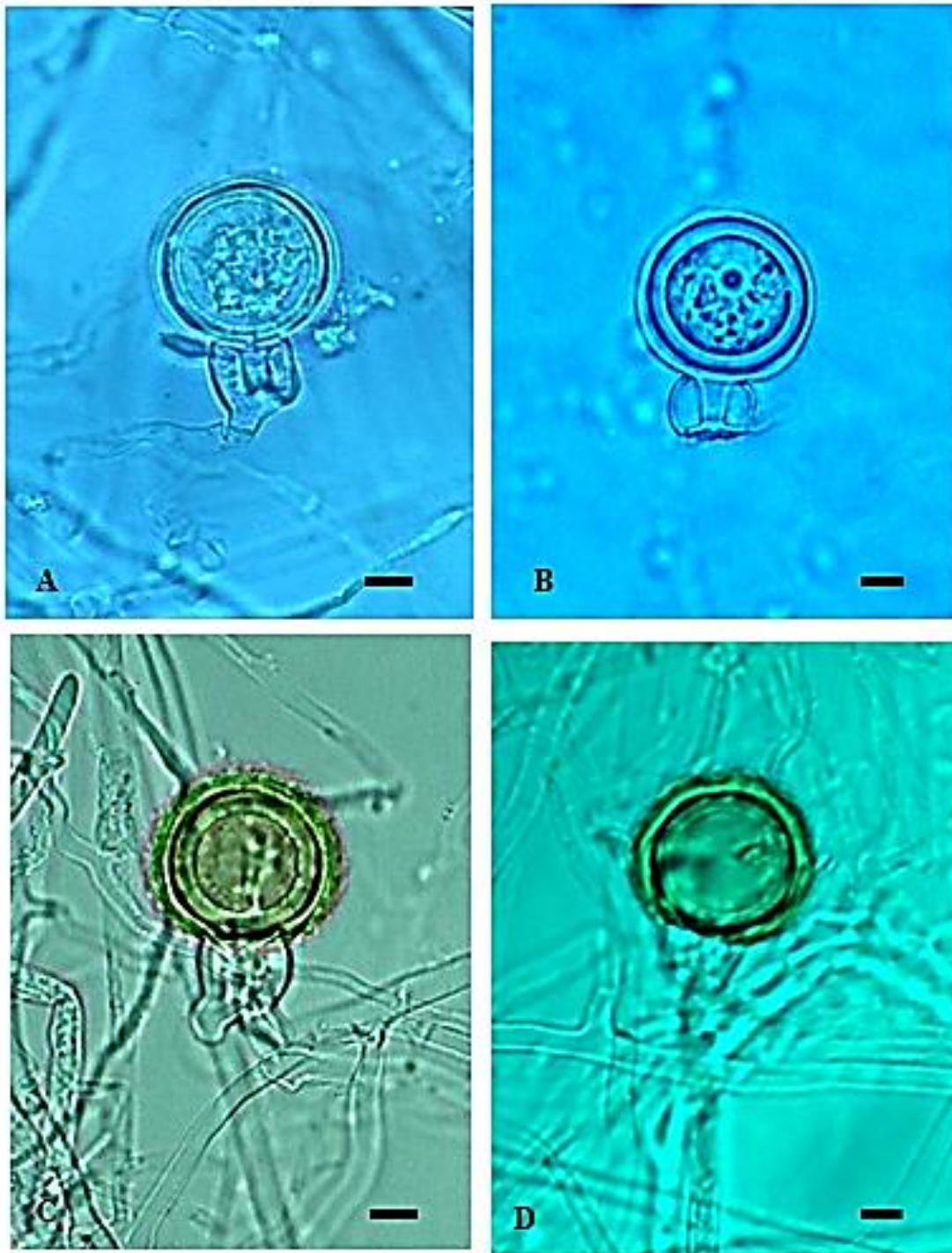


Figura 12. Órganos sexuales de *Phytophthora*: oosporas de *Phytophthora capsici* (A); Anteridio anfiginos, oogonio y oospora de la confrontación de *P. capsici* (CPCM2C) con cepas de cacao (B); *P. capsici* (A₁) x CPCM03 (A₂) con oogonio de forma adornada (C), y oospora de confrontación de *P. capsici* (CPCM3C) x CPCM27 (A₂) (D). (Bar = 10 µm).

Cuadro 1. Dimensiones de estructuras sexuales del área de contacto entre *Phytophthora* aisladas de cacao y confrontadas con *P. capsici* A1 o A2.

Cepa	Oogonio						Oospora						Anteridio					
	Promedio		Rango		Rango		Promedio		Rango		Rango		Promedio		Rango		Rango	
	L x A	L	A	RL/A	GP	A	L x A	L	A	RL/A	GP	L x A	L	A	RL/A	L	A	
*CPCM03	35.78x35.12	45-30	47-24	1.02	2.32	26.17x26.29	34-22	34-20	1.00	2.86	12.52X11.81	15x09	16-08	1.060				
**CPCM05	40.20x38.45	46-27	47-03	1.05	3.91	28.93x28.56	42-23	41-23	1.01	3.52	13.65x11.85	17x09	16-08	1.152				
**CPCM17	36.37x37.29	45-26	45-27	0.98	2.19	30.32x31.07	40-20	35-24	0.98	2.77	14.933x15.81	18x12	19-09	0.944				
**CPCM23	34.93x36.26	46-24	47-30	0.96	1.95	26.62x26.74	34-22	34-20	1.00	2.98	12.01X13.11	16x07	14-10	0.916				
*CPCM24	34.30x35.95	42-07	42-29	0.95	3.01	30.68x29.88	38-23	38-24	0.99	3.25	14.65X14.67	20x09	18-11	0.998				
**CPCM25	36.90x36.90	42-33	40-33	1.00	2.33	33.14x32.49	36-29	34-28	1.02	3.38	12.84x15.42	15x10	17-14	0.833				
*CPCM27	38.25x40.52	43-33	45-33	0.94	2.69	33.24x31.54	39-27	42-26	1.05	2.81	15.90X14.84	23x10	18-14	1.071				
**CPCM28	35.22x36.30	46-24	47-27	0.97	2.00	30.32x31.31	45-19	45-24	0.97	2.62	15.04X14.82	20x11	21-09	1.014				
*CPCM34	35.90x35.74	45-27	47-27	1.00	2.71	26.08x25.99	32-21	33-22	1.00	3.15	11.932x11.93	15x09	16-07	1.000				
**CPCM2C	35.46x36.08	41-26	42-26	0.98	2.26	31.61x32.33	38-27	40-27	0.98	1.75	16.00x15.41	23-09	21-10	0.960				
*CPCM3C	35.46x36.08	41-26	42-26	0.98	2.26	31.61x32.33	38-27	40-27	0.98	1.75	16.00x15.41	23-09	21-10	0.960				

*Cepa confrontada con A1

**Cepa confrontada con A2

4. 3. 3. Especies encontradas morfológicamente

De los 30 aislamientos colectados de mazorcas de cacao y con base en las descripciones de los resultados morfológicos se lograron formar dos grupos con características particulares, el primer grupo queda formado por 27 aislamientos: CPCM01, CPCM02, CPCM03, CPCM04, CPCM05, CPCM07, CPCM08, CPCM09, CPCM10, CPCM11, CPCM12, CPCM14, CPCM15, CPCM16, CPCM17, CPCM18, CPCM19, CPCM20, CPCM21, CPCM22, CPCM23, CPCM25, CPCM26, CPCM27, CPCM28, CPCM29 y CPCM34. El segundo grupo estuvo formado con los aislados CPCM06, CPCM13, CPCM24. Estas cepas formaron colonias blancas tipo "petaloide o flor ", micelio aéreo homogéneo de borde lobulado Producen esporangios con pedicelo largo agrupados en arreglo tipo umbela, características morfológicas y una relación largo/ancho de 2.1 μm , excepto por el aislado CPCM06 que presento valores menores en comparación a esta relación largo/ancho (1.66 μm).

4. 4. Caracterización molecular

4.4.1. Electroforesis en geles de agarosa

Los iniciadores LV1 y LV2 permitieron la amplificación, por la técnica de PCR punto final, de un fragmento de 1700pb aproximadamente (Figura 13) a partir del ADNr cromosómico de las cepas aisladas de cacao.

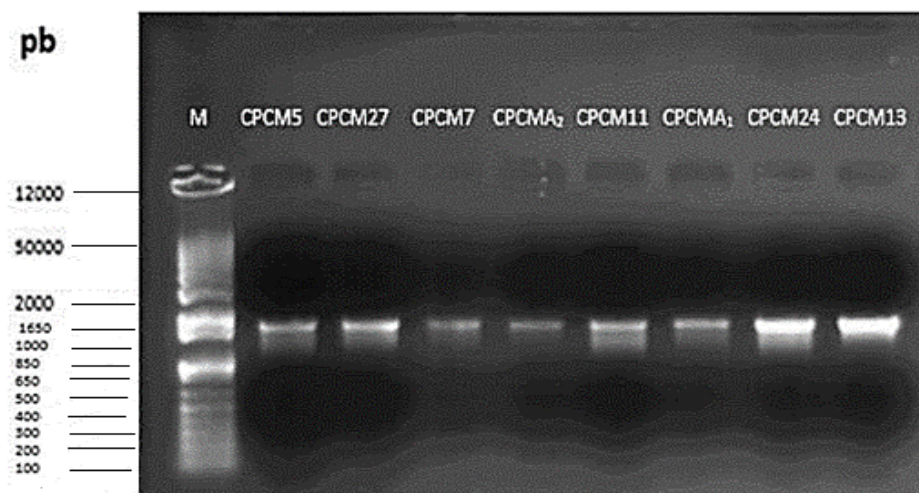


Figura 13. Fragmento de ADN del gen 18S ADNr amplificado por PCR con los oligonucleótidos iniciadores LV1 y LV2 a partir del ADNr de las cepas CPCM5, 27, 7, A2, M11, A1, 24 y 13, aisladas a partir de mazorcas de cacao. Se amplificó un fragmento de ADN de 1700pb aproximadamente (M) Marcador de talla molecular de ADN de 1 kb plus.

4. 4. 2. Secuenciación del ADN purificado

Se obtuvieron 99 fragmentos de ADN a partir de las 33 cepas ensayadas, las cuales fueron editadas y ensambladas con el software BioEdit Sequence Alignment Editor, versión 7.2.6. Las secuencias fueron registradas en la base de datos GenBank de la NCBI y están disponibles con un número de acceso asignado a cada secuencia (Cuadro 9).

4. 4. 3 Alineamiento múltiple de las secuencias parciales del gen 18S ADNr obtenida de las cepas de *Phytophthora* aisladas a partir de cacao

La secuencia de nucleótidos parcial de ADN ensamblada fue comparada mediante la herramienta BLAST con secuencias nucleotídicas codificantes de genes 18S ADNr de hongos descritas y depositadas en la base de datos de la NBCL (www.ncbi.nlm.nih.gov). Posteriormente, todas las secuencias nucleotídicas fueron alineadas empleando el software CLUSTAL X versión 2.1 (Thompson *et al.*, 1997). El alineamiento gráfico mostró las regiones con un alto grado de identidad de 99 % y 100%.

4. 4. 4. Establecimiento de Dendrogramas o Árbol de similitudes

En el dendrograma (Figura 14) se presentaron dos grupos bien definidos, a partir del análisis de los valores basados en 30 aislamientos de *Phytophthora*. Estos resultados moleculares confirman que los aislados basados en la amplificación de iniciadores universales con el gen 18S ADNr descrito por Bautista-Muñoz *et al.* (2005) corresponden al grupo de *Phytophthora*, todos los aislados están identificados como parte del grupo *P. capsici*, dentro de esta división se pueden distinguir dos subgrupos: uno formado por los aislados: CPCM01, CPCM02, CPCM03, CPCM04, CPCM08, CPCM10, CPCM11, CPCM12, CPCM14, CPCM15, CPCM28, las dos cepas de referencia *P. capsici* integradas al estudio (CPCM2C y CPCM3C) y la *P. capsici* de clave de acceso BTO32234 con 100% de similitud. El segundo grupo está compuesto por cuatro individuos los aislados CMPC06, CPCM13 Y CPCM24 y la secuencia de *P. tropicalis* (AY742743). El otro subgrupo a la vez se subdivide en otros cuatro subgrupos que podemos llamar de forma atípica de *P capsici* con 99% similitud, conformada por las cepas CPCM05, CPCM07, CPCM09, CPCM19, CPCM22, CPCM29, CPCM23, CPCM34, CPCM21, CPCM26, CPCM20 CPCM25, CPCM18.

Cuadro 9. Porcentaje de identidad de la secuencia parcial del gen 18S ADNr de las cepas *Phytophthora* con las secuencias de referencias de los parientes más próximos.

Cepa	Número de acceso GenBank	Pariente más próximo dentro del género de <i>Phytophthora</i>	Bases idénticas / Total de bases comparadas	Porcentaje máximo de identidad
CPCM01	MF783050	<i>Phytophthora capsici</i>	1731/1731	100%
CPCM02	MF784270	<i>Phytophthora capsici</i>	1714/1714	100%
CPCM03	MF782852	<i>Phytophthora capsici</i>	1729/1729	100%
CPCM04	MF782870	<i>Phytophthora capsici</i>	1731/1731	100%
CPCM05	ND	<i>Phytophthora capsici</i>	1723/1724	99%
CPCM06	MF783018	<i>Phytophthora tropicalis</i>	1729/1729	100%
CPCM07	ND	<i>Phytophthora capsici</i>	1725/1727	99%
CPCM08	MF783052	<i>Phytophthora capsici</i>	1731/1731	100%
CPCM09	ND	<i>Phytophthora capsici</i>	1726/1727	99%
CPCM10	MF783086	<i>Phytophthora capsici</i>	1729/1729	100%
CPCM11	MF783088	<i>Phytophthora capsici</i>	1729/1729	100%
CPCM12	MF783089	<i>Phytophthora capsici</i>	1726/1726	100%
CPCM13	MF784087	<i>Phytophthora tropicalis</i>	1729/1729	100%
CPCM14	MF784089	<i>Phytophthora capsici</i>	1728/1728	100%
CPCM15	MF784264	<i>Phytophthora capsici</i>	1725/1726	100%
CPCM16	ND	<i>Phytophthora capsici</i>	1722/1723	99%
CPCM17	ND	<i>Phytophthora capsici</i>	1724/1726	99%
CPCM18	ND	<i>Phytophthora capsici</i>	1722/1723	99%
CPCM19	ND	<i>Phytophthora capsici</i>	1722/1723	99%
CPCM20	ND	<i>Phytophthora capsici</i>	1725/1728	99%
CPCM21	ND	<i>Phytophthora capsici</i>	1724/1725	99%
CPCM22	ND	<i>Phytophthora capsici</i>	1725/1726	99%
CPCM23	ND	<i>Phytophthora capsici</i>	1719/1720	99%
CPCM24	MF784267	<i>Phytophthora tropicalis</i>	1731/1731	100%
CPCM25	ND	<i>Phytophthora capsici</i>	1728/1729	99%
CPCM26	ND	<i>Phytophthora capsici</i>	1728/1729	99%
CPCM27	ND	<i>Phytophthora capsici</i>	1726/1727	99%
CPCM28	MF784268	<i>Phytophthora capsici</i>	1726/1726	100%
CPCM29	ND	<i>Phytophthora capsici</i>	1723/1724	99%
CPCM34	ND	<i>Phytophthora capsici</i>	1728/1729	99%
CPCM33	EF426539	<i>Pythium</i>	1703/1703	100%
CPCM2C	ND	<i>Phytophthora capsici</i>	1724/1724	100%
CPCM3C	ND	<i>Phytophthora capsici</i>	1708/1708	100%

ND. No disponible

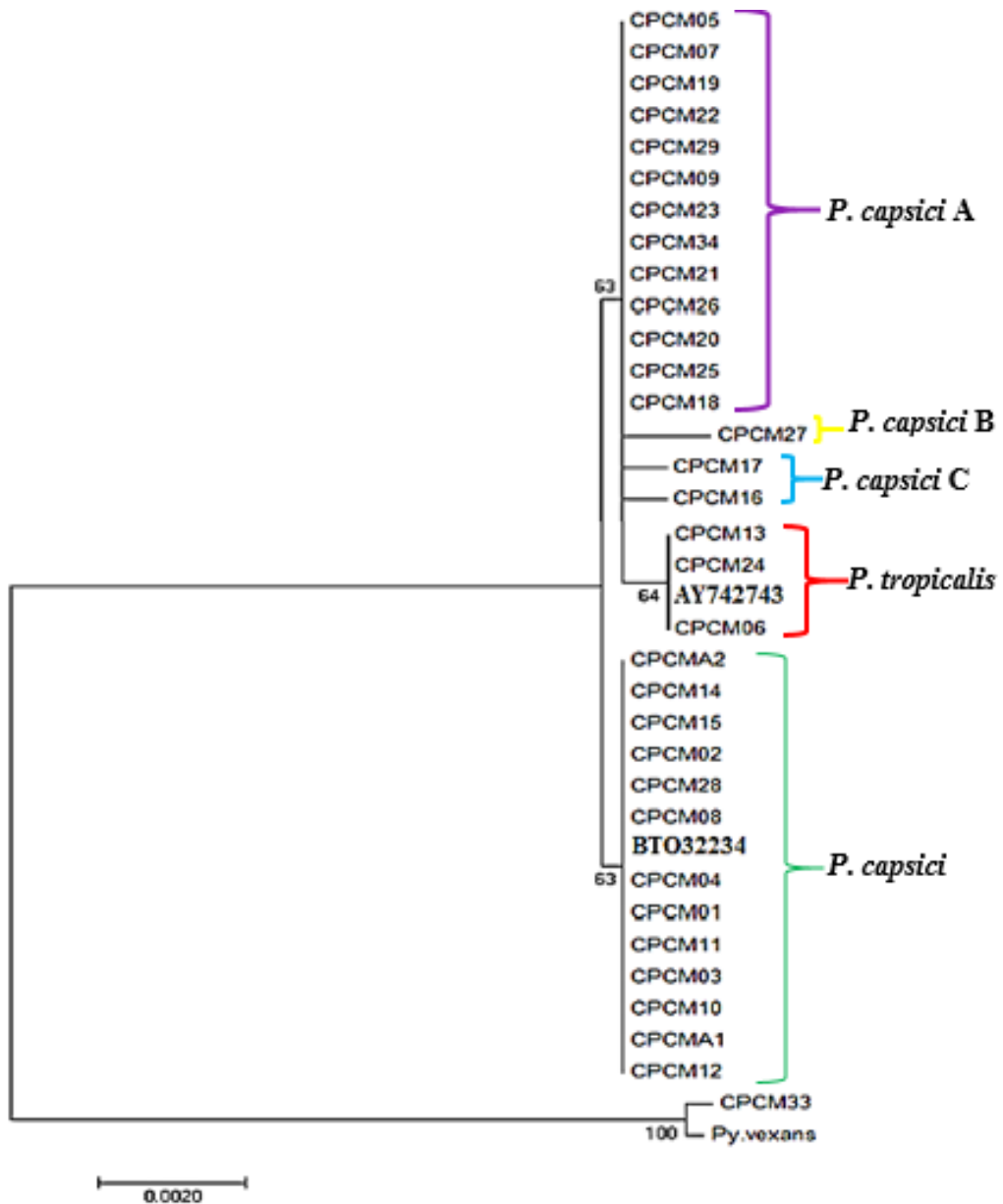


Figura 14. Relaciones de similitud de las secuencias nucleotídicas del gen 18S ADNr de *Phytophthora* aisladas de frutos de cacao. La barra indica el número de cambios por cada 100 nucleótidos. El número de cada nodo indica el valor de bootstrap mostrado en porcentaje. Se utilizaron secuencias de referencia de *P. capsici* (BTO32234) y *P. tropicalis* (AY742743) y organismo externo fuera del grupo a *Pythium* (EF26539).

De acuerdo a los resultados moleculares se distribuyeron regionalmente 5 grupos el cual se designaron como *P. capsici* típica, *P. tropicalis* y *P. capsici* atípica como A, B y C.

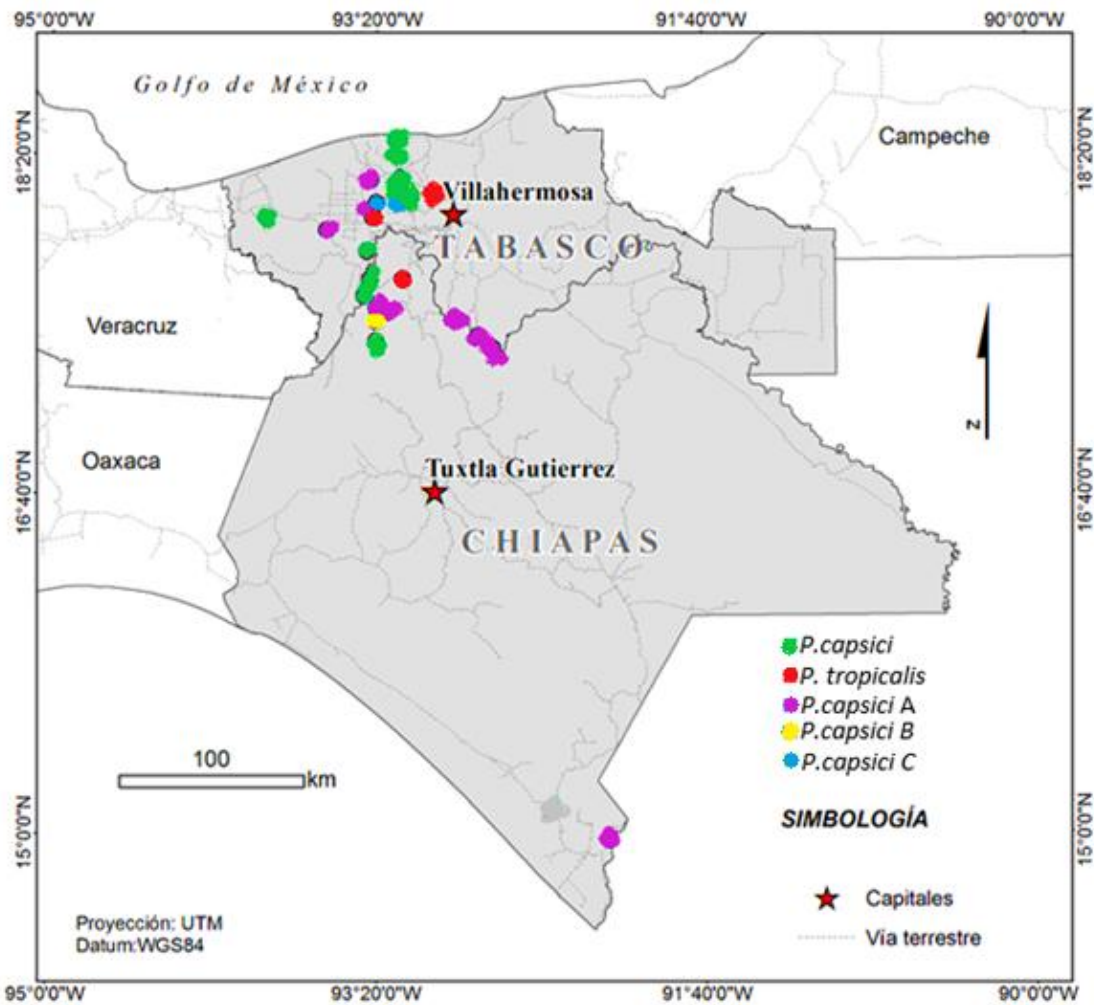


Figura 15. Distribución geográfica de los aislados de acuerdo a la especie identificada molecularmente.

La Figura 17 muestra la distribución geográfica de los cuatro grupos de aislados caracterizados molecularmente, en el norte de Tabasco y Chiapas.

V. DISCUSIÓN

Las formas de las colonias con crecimiento abundante con aspecto de flor y forma radial de aspecto plegado coinciden con las formadas que describen a *P. capsici*. Estas características son útiles para agrupar a este género Appiah *et al.* (2003) y Ribeiro (1983).

Los aislados del grupo 1, muestran un comportamiento en su tasa de crecimiento a temperatura de 20 a 35 °C que indicaron su crecimiento mayor en esas temperaturas para los aislamientos descritos como *Phytophthora* MF4, más tarde descrito como *P. capsici*. Estas características no las cumplen las especies de *P. palmivora* ni *P. megakarya* (Brasier y Griffin, 1979). Los aislados tienen un crecimiento relativamente rápido a 25°C y 35°C en 48 horas, mientras que a temperaturas de 15°C el crecimiento disminuye, por lo tanto, cumplen con el intervalo de crecimiento señalado como típicas de *P. capsici* (Stamps *et al.*, 1990). Sin embargo, el aislado CPCM27 mostro una curva diferente respecto a estos grupos donde su tasa de desarrollo óptimo se observó a temperatura de 30°C.

Dentro de los aislados la variabilidad de forma de esporangios, principalmente en el largo de pedicelos, papilas y tamaño de esporangio, en los aislados: CPCM01, CPCM05, CPCM10, CPCM15, CPCM16, CPCM17, CPCM19, CPCM22, CPCM27 que muestran medidas en los intervalos que van desde muy largos (> 20 µm) a menores a 5 µm, los cuales sobrepasan las características descritas por Martin *et al.* (2012); mientras que los aislamientos CPCM05, CPCM01 y CPCM10 se podrían señalar como características variantes que pudieron existir en los medios de cultivos *in vitos* y condicionado a múltiples factores como la luz y la temperatura tal como señaló en reportes previos (Tuset, 1997) y Erwin *et al.*, (1993) o variantes de la morfología descritas por Cooke *et al.* (2000) para este género por su capacidad de adaptación. Por otro lado, Stamps *et al.* (1990) especifica intervalos de los esporangios de *P. capsici* de 45–75 µm, intervalo similar a los obtenidos en este estudio y se representan en el Cuadro 5. La caducidad de los esporangios que son también características importantes y que resultaron favorables a *P. capsici* de acuerdo a los resultados antes descritos. Además, cabe señalar que los pedicelos observados fueron largos y libres, no se observaron en forma simpodial en agua ni medio sólido, característica que difiere con lo que señala Stamps *et al.* (1990).

De igual forma, en algunos aislados las clamidosporas se formaron de manera terminal e intercalar, cuando presentaron, sin embargo, en otros casos fueron pocas y en algunos aislados no se encontró la formación de éstas lo cual concuerda con las características referidas para *P.*

capsici (Zentmyer, 1987; Stamps *et al.*, 1990; Romero, 1993; Martin *et al.*, 2012). Estos resultados obtenidos también coinciden con lo reportado por Montes y de los Santos (1989), caracterizados como *P. capsici* en Tabasco y Chiapas. En contraste sólo un aislado se registró con formación abundante de clamidosporas (CPCM07), lo cual se podría interpretar como una variante dentro del grupo de los aislados.

La formación de estructuras sexuales para *Phytophthora* es la segunda característica más importante en la taxonomía de este género (Martin *et al.*, 2012). En este estudio todas las cepas respondieron sexualmente a las de referencia *P. capsici*, A1 o A2, siendo mayoritariamente (9:1) el tipo A1 sobre el grupo A2, indicando un comportamiento heterotálicas. Los oogonios presentan oosporas pleróticas con anteridio anfígeno y de dimensiones promedio tal como sugieren Stamps *et al.* (1999) y Erwin y Ribeiro (1996) (Cuados 8).

Estructuras sexuales con oogonio esférico con dimensiones máximas de 40.20 x 38.45 y mínimas de 34.93 x 36.26 μm , relación L/A de 1.0. Oospora con dimensiones máximas de 33.24 x 31.54 μm y mínimas de 26.08 x 25.99 μm . Anteridio con dimensiones máximas 15.90 x 14.84 μm , mínimas de 11.93 x 11.93 μm . Las características descritas para los aislados de fruto de cacao correspondiente al primer grupo, coinciden con las características descritas realizadas por Stamps *et al.* (1990) y Martin *et al.* (2012) y Montes y de los Santos (1989) como *P. capsici*. Sin embargo, los aislados que presentaron variación como la forma de las estructuras asexuales también se agruparon dentro de esta misma especie.

De acuerdo a las características descritas correspondientes al primer grupo corresponde a la especie de *P. capsici*, con características de crecimiento micelial abundante tomando la forma colonial de aspecto variado como se muestra en la Figura 5, con forma radial y flor en algunos aislados. Temperaturas de crecimiento óptimos de 20-35 °C. Esporangios individuales y formas predominantemente elípticos, ovoides, con dimensiones promedios máximas de 50.41 x 27.30 μm y mínimas de 12.46 x 11.15 μm , relación L/A de 1.07/1.11 μm con papilas de 3.1 a 5.61 μm . Pedicelos largos con dimensiones promedio máximas de 168 y mínima de 17 μm . Clamidosporas con dimensiones máximas de 30.56 x 30.66 μm , mínimas 24.20 x 23.08 μm con un grosor de pared de 1.60-2.80 μm .

El segundo grupo las características coinciden totalmente con *P. tropicalis* realizadas por Aragaki y Uchida (2001), quienes la describieron con arreglo esporangial en tipo umbela y con pedicelo usualmente mayor de 50 μm como se observa en estos mismos aislados que van de

69.39, 156.6 y 75.75 μm aun cuando dentro de los mismos aislados estudiados hay promedios mayores a este (Cuadro 5); no presentan la característica típica de esta especie del tipo umbelado. Además, Appiah *et al.* (2003) reporta las variaciones morfológicas de *phythophthora* asociada a cacao y señala que los principales parámetros descriptivos para *P. tropicalis* como el ancho de esporangio menor al largo y la relación de esta $> 1.8 \mu\text{m}$, lo que coincide con nuestros aislados en esta importante característica referenciado por dichos autores.

En cuanto a la producción de clamidosporas solo en el aislado CPC24 se observó la formación, y oscilaban entre 30.16 x 30.55 μm de diámetro con paredes de hasta 2.6 μm de grosor. Sin embargo, no todos los aislamientos con esta misma característica produjeron clamidosporas en los medios de cultivo. En relación a la temperatura se observó que el desarrollo óptimo de la tasa de crecimiento fue a 30°C, aunque la cepa CPCM13 difiere ligeramente, mostrando mejor crecimiento a 35°C, características que muestran similitud en las características que describe Martin *et al.* (2012). Por lo que podríamos afirmar que corresponden a la especie *P. tropicalis*. Estos aislados fueron heterotálicos en la confrontación con *P. capsici*, aunque estos aislamientos se mostraron sexualmente estériles cuando se confrontan entre cepas complementarias de cacao, pese a que se exploraron en más de tres medios de cultivos, CPCM06 y CPCM13 fueron estériles. Asimismo, Aragaki y Uchida (2001) destacan que en *P. tropicalis*, pueden encontrarse ambos tipos.

Otra de las características observadas fue la forma estrecha del esporangio que marca una diferencia entre *P. tropicalis* y *P. capsici*. De acuerdo a los resultados obtenidos y las características que destacan a los aislados antes descritos, estos difieren ligeramente con la descripción de esta especie, pero concuerdan con la descripción que hace Martin *et al.* (2012) apoyando la posible clasificación de estos aislados como *P. tropicalis*; siendo éste el primer reporte de la existencia de *P. tropicalis* en México, dentro de la zona cacaotera de Tabasco y el Norte de Chiapas.

De acuerdo a la caracterización morfológica, los 27 aislados del primer grupo, con colonias de forma radial, micelio de cenocítico, con esporangios libres, clamidosporas en forma terminal e intercalar, y oosporas pleróticas y anteridio anfígeno, son identificadas como *P. capsici* (Stamp *et al.*, 1990; Alizadeth y Tsao, 1983). El segundo grupo, con colonias tipo flor, micelio cenocítico, con esporangio agrupados en umbela, pedicelos largos y base recta, clamidosporas

en forma terminal e intercalar, si las presentan, y con oosporas pleróticas y anteridio anfígeno, son identificadas como *P. tropicalis* (Aragaki y Uchida 2001; Martin *et al.* 2012).

La caracterización molecular confirma que los aislamientos de las especies *P. capsici* y *P. tropicalis* están conviviendo en la zona cacaotera de Tabasco y el Norte de Chiapas. Además, permitió encontrar variantes importantes de los patógenos que causan la enfermedad MNC. Esto podría justificarse con la diversidad que existe dentro de la especie de *P. capsici* señaladas por diversos autores (Oudemans and Coffey, 1991; Mchau and Coffey, 1995; Förster *et al.*, 2000; Aragaki y Uchida, 2001 y Appih *et al.* 2004). El segundo subgrupo se integró con los aislados CMPC06, CPCM13 Y CPCM24 con 100% de similitud a *P. tropicalis*. (Secuencia AY742743 del NCBI). Cuya morfología e identificación molecular coinciden con las descripciones de Aragaki y Uchida, 2001 y Martin *et al.* 2012.

Los resultados moleculares confirmaron sólo la presencia de dos especies de *Phytophthora* en los cacaotales del sureste de México. Sin embargo, no se evidencia a *P. palmivora*, *P. nicotiane*, *P. citrophthora* referidas por Montes y Santos (1989) y además de *P. hevea* por Lozano y Romero (1984) quienes reportaron presencia en plantaciones de cacao del sureste de México. Por el contrario, se ratifica los resultados de Ortiz-García, (1996) quien reporta a *P. capsici* en dicha región.

Por ello se debería realizar otros estudios moleculares complementarios a fin de entender, más ampliamente, las diferencias que existen entre las cepas de *P. capsici* que integran los subgrupos formados con respecto a *P. capsici* y *P. tropicalis*.

Es este estudio, tanto la caracterización morfológica como la molecular, confirman que aislamientos de las especies *P. capsici* y *P. tropicalis* están conviviendo en la zona cacaotera de Tabasco y el Norte de Chiapas. Además, el estudio molecular permitió encontrar variantes importantes de los patógenos que causan la enfermedad de la mancha negra en cacaotales del Sureste de México.

Lo anterior apoya la hipótesis del desplazamiento de poblaciones viejas por nuevas de *P. capsici*, introducidas o generadas sexual o asexualmente, las cuales pudieran presentar una mejor adaptación a las condiciones biológicas y medioambientales de los agroecosistemas cacaotaleros de la región, o a una recombinación como menciona Kroon *et al.*, (2010).

La distribución geográfica de los aislados de los dos subgrupos principales de *P. capsici* típico con 100% de similitud está disperso principalmente en las comunidades del centro y del norte

de Tabasco, es decir la planicie costera. En cambio, el grupo A de *P. capsici* atípico con 99% de similitud está mayormente presente en las comunidades del norte de Chiapas y el Sur de Tabasco caracterizado por orografías de montaña (Figura 15). Estos dos grupos con asociación dominante sobre ambientes particulares podría señalárseles como dos poblaciones independientes, de introducciones a México por eventos distintos y que podrían actualmente estar interactuando sexualmente y generando cambios que no fueron puestos en evidencias por Ortiz-García (1996), y sean estas formas las que expliquen la composición de otros subgrupos con variantes importante. Como el desarrollo de oosporas coloridas y de paredes gruesas puestas en evidencias en los cruzamientos del aislamiento CPCM27 de cacao x *P. capsici* de Chile, aislamiento que se ubica en un subgrupo. La presencia de aislamientos de *P. tropicalis* podría igualmente obedecer a introducciones recientes asociadas a otros cultivos de ornato y que están migrando al cacao, o son cepas generadas dentro de la diversidad de la propia *P. capsici* de cacao y que fue precipitadamente descrita como una nueva especie como señala Oudemans *et al.* (1994).

Con los resultados obtenidos se hace el primer reporte mediante técnicas morfológicas y moleculares, sobre la presencia de *P. tropicalis*, aunque con menor frecuencia en esta misma región, confirmando así la hipótesis planteada que en los cacaotales de Tabasco y Chiapas coexisten más de una especie de *Phytophthora* que provocan MNC.

VI. CONCLUSIÓN

La caracterización morfológica de los aislamientos, referentes al tipo de colonia, temperaturas de desarrollo y caracteres de las estructuras asexuales y sexuales, permitieron poner en evidencia la presencia de dos especies de *Phytophthora*: *P. capsici* dominante y *P. tropicalis* de forma minoritaria.

Se confirma que los aislados de *P. capsici* y *P. tropicalis* asociadas a cacao, son poblaciones heterotálicas y que ambos tipos de compatibilidad sexual están presentes (A1 y A2) para ambas especies, lo que aumenta el riesgo a que se presente variabilidad en los aislados.

La caracterización molecular de los aislamientos de cacao, referentes a las secuencias del gen 18S, del ADNr, confirmaron la presencia de dos especies: *P. capsici* dominante y *P. tropicalis* de forma minoritaria.

La caracterización molecular de los aislamientos de cacao referentes a las secuencias del gen codificante del ARNr 18S, permite establecer la presencia de variabilidad genética intra específica en *P. capsici* reflejada como un subgrupo de *P. capsici* denominado atípica y dos subgrupos más con variaciones importantes, del mismo modo que muestra la cercanía genética que existe entre *P. capsici* y *P. tropicalis*.

Se hace el primer reporte de la presencia de *P. tropicalis* provocando mancha negra en cacaotales en Tabasco y el Norte de Chiapas.

VII. RECOMENDACIÓN

Los resultados derivados de este trabajo constituyen el punto de partida de estudios posteriores para la caracterización de un número mayor de aislados, ampliando las zonas de muestreo en las regiones productoras de cacao con el fin de profundizar en la variabilidad de *Phytophthora*. Asimismo, es de interés ampliar las colectas en otros hospedantes de importancia económica con el fin de poder entender los riesgos que se tienen conforme al desarrollo o introducción de nuevas especies.

VIII. LITERATURA CITADA

- Abad, G. 2008. Ph. D. USDA/APHIS/PPQ/PHP/PSPI/MDL.3rd International *Phytophthora*, *Pythium* and related genera Workshop: Integration of Traditional and Modern Approaches for Investigating the Taxonomy and Evolution of the Oomycetes Turin – Italy 23 – 24. <http://www.phytophthoradb.org/pdf/O30Abad.pdf>.
- Acosta-Pérez, J., A. C. F. Ortiz-García, J. M. Zaldívar-Cruz, M. Rodríguez-Cuevas, C.C. Bautista-Muñoz, C. de la Cruz Castillo-Aguilar. 2012. Selección de patrones de cítricos tolerantes al virus de la tristeza de los cítricos (VTC) con resistencia a la gomosis de los cítricos en la sabana de Huimanguillo. Tabasco, México. *Universidad y Ciencia*. 28(3):245-258.
- Aime, M. C. and Phillips, M. W. 2005. The causal agents of witches' broom and frosty pod rot of cacao (*Chocolate*, *Theobroma cacao*) form a new lineage of Marasmiaceae. *Mycologia* 97:1012-1022.
- Alverson, W. S., B. A. Whitlock, R. Nyfeller, C. Bayer and D.A. Baum.1999. Phylogeny of the core Malvales: Evidence from *ndhF* sequence data. *Amer. J. Bot.*86: 1474-1486.
- Appiah A. A. Flood J, Archer A, and Bridge PD. 2003. Inter-and intraspecific morphometric variation and characterization of *Phytophthora* isolates from cocoa. *Plant Pathology*. 52: 168-180.
- Appiah A. A., J. Flood., S.A. Archer., P. D. Bridge. 2004 Molecular analysis of the major *Phytophthora* species on cocoa. *Plant Pathology* 53:209-219.
- Aragaki, M. and Uchida, J. Y. 2001. Morphological distinctions between *Phytophthora capsici* and *P. tropicalis* spp. Nov. *Mycologia* 93: 137-145
- Ashby, S.F. 1929. Strains and taxonomy of *Phytophthora palmivora* Butler (*P. faberi* Maubl.). *Transactions of the British Mycological Society* (14) 18–38.
- Baayen, R. P., O'Donnell, K., Bonants, P. J. M., Cigelnik, E., Kroon, L. P. N., Roebroeck, E. J. A. y Waalwijk, C. 2000. Gene genealogies and AFLP analyses in the *Fusarium oxysporum* complex identify monophyletic and nonmonophyletic formae speciales causing wilt and rot disease. *Phytopathology*, vol. 90, pp. 891–900.
- Baker, R. E. D. 1936. Notes on Trinidad fungi. *Phytophthora. Tropical Agriculture* (Trinidad), 13, 330–332.
- Bautista-Muñoz, C. C. Hernández-Rodríguez. C., Villa-Tanaca. 2005. Analysis and expression of STE3ca gene encoding a putative X-prolyl dipeptidyl aminopeptidase from *Candida albicans*. *FEMS immunology and Medical Microbiology*.45:459-469
- Birch, P. R. J. and Whisson, S.C. 2001. *Phytophthora infestans* enters the genomics era. *Molecular Plant Pathology* 2(5) 257-263.
- Blair, J. E.; Coffey, M. D.; Park, S-Y., Geiser, D.M. and Kang, S. 2008. A multilocus phylogeny for *Phytophthora* utilizing markers derived from complete genome sequences. *Fungal Genetics and Biology* 45: 266-277.
- Boccas, B. and Laville, E. 1976. Les maladies a *Phytophthora* des agrumes. INRA. France. Editions SETCO. 162 pp.
- Bowers, J. H., Bailey, B. A., Hebbbar, P. K., Sanogo, S., and Lumsden, R. D. 2001. The impact of plant diseases on world chocolate production. *Plant Health Progress*. Doi:10.1094/PHP-2001-0709-01-RV. Published online. <https://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/review/cacao/Bowers.pdf>
- Brasier, C. M., and Griffin, M. J. 1979. Taxonomy of *Phytophthora palmivora* on cocoa. *Transactions of the British Mycological Society*: 72, 111–143.

- Bush, E. A., Stromberg, E. L., Hong, C., Richardson, P. A., and Kong, P. 2006. Illustration of key morphological characteristics of *Phytophthora* species identified in Virginia nursery irrigation water. *Plant Health Progress* Doi: 10.1094/PHP-2006-0621-01-RS.
- Butler, E. J. 1907. Report of the Imperial Mycologist, 1918-1919. Scientific Report of the Research Institute Pusa 1918-1919, p. 82
- Chee, K. H., and Wastie, R. L. 1970. Black pod disease of cocoa. *Planter*, Kuala Lumpur, 46, 294–297.
- Chowdappa, P., and Chandramohan, R. 1997. Occurrence and distribución of mating types of *Phytophthora* species causing black pod disease of cocoa. *Indian Phytopathology*, 50(2): 256–260.
- Clapp J, Young J, Merryweather J, Fitter A 1995. Diversity of fungal symbionts in arbuscular mycorrhizas from natural community. *New Phytologist* 130: 259-265.
- Coe, M y S. Coe. 2013. La verdadera historia del chocolate. Trad. Marco Antonio Pulido Rull. Fondo DE Cultura Económica, Mexico.396p.
- Cooke, D.H.L.; Drenth, A.; Duncan, J.M.; Wagels, G. and Brasier, C.M. 2000. A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related Oomycetes. *Fungal Genetics and Biology* 30:17-32.
- Córdova, A. V., Mendoza, P. J., Vargas, V. L., Izquierdo, R. F. y Ortíz, G. C. 2008. Participación de las asociaciones campesinas en el acopio y comercialización de cacao (*Theobroma cacao* l.) en Tabasco, México. *Universidad y Ciencia*. 24:147-158.
- Cuatrecasas, J. 1964. Cacao and its hallies. A taxonomic revision of the genus *Theobroma*. Contributions from The United States National Herbarium 35: 379-614.
- Down, G. 2002. Fungal family trees: Finding relationships from molecular data, *Mycologist*, vol. 16, pp. 51–58.
- Drenth A., Wagels G., Smith B., Sendall B., O'Dwyer C., Irvine G., Irwin J. A. G., 2006. Development of a DNA-based method for detection and identification of *Phytophthora* species. *Australasian Plant Pathology* 35: 147-159
- Ersek T, Schoeltz JE, English JT, 1994. PCR amplification of species-specific DNA sequences can distinguish among *Phytophthora* species. *Applied and Environmental Microbiology* 60, 2616–21.
- Erwin, D. C., Bartnicki G, S. and Tsao, P.H. 1983. *Phytophthora* its biology, taxonomy, ecology and pathology. American *Phytopathological Society*. 392 pp.
- Evans, H. C, Holmes, K. A. y Thomas, S. E, 2003. Endophytes and mycoparasites associated with an indigenous forest tree, *Theobroma gileri*, in Ecuador and a preliminary assessment of their potential as biocontrol agents of cocoa diseases. *Mycological Progress* 2:149–160.
- Forster, H. and Coffey, M. D. 1992. Molecular characterization of *Phytophthora*. Isolates with non papillate sporangia causing root rot of raspberry using DNAm restriction fragment length polymorphisms. *Mycological Research* 96: 571-577.
- Forster H. Cummings. M. P., M. D. Coffey 2000. Phylogenetic relationships of *Phytophthora* species based on ribosomal ITS I DNA sequence analysis with emphasis on Waterhouse groups V and VI. *Mycological Research* 104 :9 1055 1061.
- Frias, T. G. 1981. Importancia del suelo como fuente de inóculo y su relación con la epidemia de la pudrición negra de la mazorca del cacao causada por *Phytophthora palmivora* (Butl). Tesis de Maestría. Colegio superior de agricultura tropical, Cárdenas, Tabasco, México.
- Galindo, J. 1986. Enfermedades del cacao de importancia económica en América. *Revista Mexicana de Fitopatología* (1):76-88.

- Gallegly M. E, and Galindo, J. 1958. Mating type and oospores of *Phytophthora infestans* in nature in Mexico. *Phytopathology* 48, 274–7.
- Gallegly, M. and Hong, C. 2008. *Phytophthora*. Identifying Species by Morphology and ADN Fingerprints. American Phytopathological Society, St. Paul, MN. 158 pp.
- Gómez, D. N., Martínez, Trujillo. Miguel., Carreón, A. Y. 2012. Utilización del ADN ribosomal 18S para la identificación de Hongos Micorrízicos Arbusculares que colonizan plantas de aguacate (*Persea americana* Mill.), Laboratorio de Genética y Microbiología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán. 14(2): 42 – 47.
- Griffith, G. W., Nicholson, J., Nenninger, A., Birch, R. N., and Hedger, J. N. 2003. Witches' brooms and frosty pods: Two major pathogens of cacao. *New Zealand Journal of Botany*, 41,423–435.
- Griffith, G.H. and Shaw, D.S. 1998. Polymorphism in *Phytophthora infestans*: Four Mitochondrial haplotypes are detected after PCR Amplification of DNA from pure cultures por from host lesions. *Applied of Environmental Microbiology*. 64 (10): 4007-4014.
- Guest, D. 2007. Black pod: diverse pathogens with a global impact on cocoa yield. *Phytopathology*, 97: 1650–1653.
- Gunderson, J. H., Elwood, H., Ingold, A., Kindle, K. and Sogin, M. L. 1987. Phylogenetic relationships between chlorophytes, chrysophytes, and oomycetes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 84:5823-5827.
- Hernández, G, E. 2014. Diagnóstico fitosanitario de cacao (*Theobroma cacao* L.) en Chiapas, Tesis de Maestría, Montecillos, Edo. México.
- Jaramillo, V. S. 2003. Monografía sobre *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuaria. Medellín.
- Karp, A.; Edwards, K. 1998. DNA markers: a global overview. In: G. Caetano- Anollés, P.M. eds. DNA markers: protocols, applications and overviews. Gresshoff. New York. p. 1-13.
- Kong, P.; Hong, C. X. and Richardson, P. A. 2003. Rapid detection of *Phytophthora cinnamomi* using PCR with primers derived from the Lpv putative storage protein genes. *Plant Pathology* 52:681-693.
- Kroon, L P. N. M., Bakker, F. T., Van Den Bosch, G. B. M., Bonants, P. J. M. and Flier, W. G. 2004. Phylogenetic analysis of *Phytophthora* species based on mitochondrial and nuclear ADN sequences. *Fungal Genetic Biology* 41:766-782.
- Kroon, L. P. N. M., Van Raaij, H. M. G., and Flier, W. G., 2010. Inheritance of host specificity in hybrid progeny of the oomycete pathogens *Phytophthora infestans* and *P. mirabilis*. *European Journal of Plant Pathology* (under revision).
- Kroon, L. P. N. M.; Brouwer, H.; de Cock, A. W. A. M. and Govers, F. 2012. The genus *Phytophthora*, 2012. *Phytopathology* 102:348-364.
- Lamour, K. H.; Stam, R.; Jupe, J. and Huitema, E. 2012. The oomycete broad-host-range pathogen *Phytophthora capsici*. *Molecular Plant Pathology* 13 (4):329–337. Doi: 10.1111/J.1364-3703.2011.00754.
- Leonian, L.H. 1922. Stem and fruit blight of peppers caused by *Phytophthora capsici* sp. nov. *Phytopathology* 12:401-408.
- Limón -Vadillo, B., 1945. Algunas enfermedades fungosas del cacaotero en Tabasco, Tesis de ENA Chapingo. México 125.
- Liyanage, N. I. S., and Wheeler, B. E. J. 1989. *Phytophthora katsurae* from cocoa. *Plant Pathology*, 38, 627–629.

- López A., P.A., V. H. Delgado N y A. Azpeitia M. 1996. El cacao *Theobroma cacao* L. En Tabasco. INIFAP-Gobierno del Estado de Tabasco. Libro Técnico N° 1. Villahermosa, Tabasco. 270p.
- Lozano, T. Z. E., y Romero, C. S. 1984. Estudio taxonómico de aislamientos de *Phytophthora* patógenos de cacao. *Agrociencia*, 56, 176–182.
- Márquez, M. y Montes, R. 1978. Lugar de supervivencia de *Phytophthora palmivora* en plantaciones de cacao y su importancia al inicio de la epifitía en el estado de Tabasco. Colegio de agricultura tropical, Tabasco, México.
- Martin, F. N., Abad, Z. G., Balci, Y., and Ivors, K. 2012. Identification and detection of *Phytophthora*: Reviewing our progress, identifying our needs. *Plant Disease*, 96(8), 1080–1102.
- Martin, F.N. and Tooley, P.W. 2003. Phylogenetic relationships among *Phytophthora* species inferred from sequence analysis of mitochondrial encoded cytochrome oxidase I and II genes. *Mycologia* 95:269-284.
- McDonald, B.A. and Linde, C. 2002. Pathogen Population Genetics, Evolutionary Potential and Durable Resistance. *Annual Review. Phytopathology* 40:349–79.
- Mchau, G.R.A. and Coffey, M.D. 1995. Evidence of the existence of two subpopulations in *Phytophthora capsici* and a redescription of the species. *Mycological Research* 99:89-102.
- Meyers, J. A., D. Sanchez, L. P. Elwell, y Falkow, S. 1976. Simple agarose
- Montes-Belmont, R. y de los Santos, L., 1989. Especies de *Phytophthora* aisladas de cacao en México y su distribución geográfica. *Turrialba*, 39(4):473-476.
- Motamayor, J. C., Lachenaud, P. Lachenaud, J. Wallace, G. Looor D. N. Kuhn, J. S. Brown, and R. J. Schnell. 2008 Geographic and Genetic Population differentiation of the Amazonian chocolate tree. (*Theobroma cacao* L). *PLoS one*: e3311. Doi: 10.1371/journal.pone.0089011-4.
- Maublanc, A. 1909. Les maladies des plantes cultivées dans les pays chauds. Maladies du cacaoyer. *L'Agricpratique des Pays Chauds* 9, 314-318.
- NCBI 2017. National Center for Biotechnology Information (www.ncbi.nlm.nih.gov).
- Nicholas KB, Nicholas HB, Der_e_rld DI .1997. GeneDoc: Analysis and Visualization of Genetic Variation. *Embnews News* 4: 14.
- Ortiz-García, C. 1996. Etude de la diversité génétique de populations de *Phytophthora* pathogènes du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) et du cocotier (*Cocos nucifera* L.). Tesis doctoral. Université Paul Sabatier- Centre de Fisiologia Vegetal-CNRS. Toulouse, France.85p.
- Oudemans, P., Forster, H and Coffey, M. D., 1994. Evidence for distinct isozyme subgroups within *Phytophthora citricola* and close relationships with *P. capsici* and *P. citrophthora*. *Mycol.Res.*98 (2):198-199.
- Panabieres, F., Marais, A., Trentin, F., Bonnet, P., and Ricci, P. 1989. Repetitive DNA polymorphism analysis as a tool for identifying *Phytophthora* species. *Phytopathology*, 79(10), 1105–1109.
- Paquin, B., Laforest, M. J., Forget L., Roewer, I., Wang, Z., Longcore, J. and Lang, B. F. 1997. The fungal mitochondrial genome project: evolution of fungal mitochondrial genomes and their gene expression. *Current Genetics* 31:380-395.
- Phillips, M. W. 2004. La moniliasis del cacao: una seria amenaza para el cacao en México. In: Simposio Nacional sobre enfermedades tropicales. Resúmenes de ponencias. Tabasco, México.

- Phillips, M.W., Coutiño, A., Ortiz, C.F., López, A.P., Hernández, J., y Aime, M.C. 2006. First report of *Moniliophthora roreri* causing frosty pod rot (moniliasis disease) of cocoa in Mexico. *Plant Pathology* 55:584.
- Phillips-Mora, W., 2003. Origin, biogeography, genetic diversity and taxonomic affinities of the cacao (*Theobroma cacao* L.) fungus *Moniliophthora roreri* (Cif.) Evans *et al.* as determined using molecular, phytopathological and morpho-physiological evidence. PH. D. Thesis. University of Reading, UK.349 p.
- Powis, T.G., A. Cypher, N. W. Gaikwar, L. Grivetti, and K. Cheong. 2011. Cacao use and the San Lorenzo Olmec. *PNAS* 108(21):8595-8600.
- Raven. P. H., Evert R.F. and Eichhom. S. 1999. Biology of plants. Six Edition. New York. WH freeman and company. 944. pp 370. MONOGRAFIA SOBRE *Phytophthora infestans* (MONT) DE BARY.
- Ristaino, J.B. and Johnston, S.A. 1999. Ecologically based approaches to management of *Phytophthora* blight on bell pepper. *Plant Disease* 83:1080-1089.
- Ristaino, J.B., Madritch, M., Trout, C.L. and Parra, G. 1998. PCR amplification of ribosomal ADN for species identification in the plant pathogen genus *Phytophthora*. *Applied Environmental Microbiology* 64:948-954.
- Romero C. S. 1993. Hongos Fitopatógenos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. p 347.
- Saldaña H., M., I. 2002. Diagnóstico de la pudrición de la raíz del papayo causado por *Phytophthora* sp., en la Chontalpa y Centro Tabasco. Colegio de Postgraduados. Tesis de Maestría. Tabasco, México.
- Sambrook J, Fritsch FT, Maniatis E 1989. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, USA. 1531.
- Sánchez, C. M. Jaramillo. A. E. Ramírez, M. I. 2015. Enfermedades del cacao. Universidad Técnica de Machala. Pp. 153
- Savage, E. J., Clayton, C.W., Hunter, J. H., Breneman, J.A., Laviola, C., and Gallegly, M. E. 1968. Homothallism, heterothallism, and interspecific hybridization in the genus *Phytophthora*. *Phytopathology* 58:1004-021.
- SIAP. 2017. Cacao. Cierre de la producción agrícola Nacional. Servicio de Información Alimentaria y Pesquera. SIAP-SAGARPA. Fecha de revisión 07 septiembre 2017. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalCultivo.do
- Simón L, Bousquet J, Levesque RC, Lalonde M 1993. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature* 363:67-69.
- Smart, C.D; Sandrock, R. W.; and Fry, R. 2000. Molecular Techniques and Mystery of the Potato Late Blight Pathogen. Plant-Microbe Interactions. Vol 5. Edited by Gary Stacey and Noel Keen. 336p. APS (American Phytopathology Society) Press. St. Paul Mn. United States of America. PP: 21-41
- Smith R.E. and Smith, E.H. 1906. A new fungus of economic importance. *Botanical Gazette*, 42:215-221.
- Sreenivasan, T. N. 1975. A new *Phytophthora*. Annual Report, Cocoa Research Unit. St. Augustine, Trinidad. p. 20.
- Stamps, D. J.; Waterhouse, G. M.; Newhook, F. J. & Hall, G. S. 1990. Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. Mycological Paper N° 162.C.A.B. 28 pp.
- Taiz, L. and Zeiger, E. 2010. Plant Physiology. Ed. Sinauer. 5ta. Edition. 782 pp.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24: 1596-1599.

- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG, 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 24: 4876e4882.
- Tooley, P. W., Therrien, C. D., Ritch, D. L. 1989. Mating type, race composition, nuclear DNA cont and isozyme analysis of Peruvian isolates of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology*. 79: 478-81.
- Tsao, P. H. and Alizadeh, A. 1988. Recent advances in the taxonomy and nomenclature of the so-called “*Phytophthora palmivora*” MF4 occurring on cocoa and other tropical crops. Proceedings of 10th International Cocoa Research Conference, Santo Domingo, 17–23 May, 1987. pp. 441 445. [Google Scholar](#)
- Tucker, C. M. 1931. Taxonomy of the Genus *Phytophthora* de Bary. University of Missouri, Columbia. *Agricultural Experiment Station Bulletin* 153:1-208.
- Turner, P. D. 1961. Strains of *Phytophthora palmivora* Butl. From *Theobroma cacao* L. II. Isolates from non-African countries. *Transactions of the British Mycological Society*: 44, 409–416.
- Tuset, J.J. 1977. Contribución al conocimiento del género *Phytophthora* en España. *Anales INIA. Serie protección vegetal* 7:11-106.
- Viaud, M., Pasquier, A. y Brygoo, Y. 2000. Diversity of soil fungi studied by PCR-RFLP of ITS', *Mycological Research*, 104:1027–1032.
- Walker, C. A., and van West, P. 2007. Zoospore development in the oomycetes. *Fungal Biology Reviews*: 21(1), 10–18.
- Waterhouse, G. M. 1963. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. *Mycological Papers*, no. 92:122. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England.
- Waterhouse, G. M. (1974b). *Phytophthora palmivora* and some related species. In P. H. Gregory (Ed.), *Phytophthora disease of cocoa* (pp. 51–70).
- Whitlock, B., Bayer, C., y Baum, D. 2001. Phylogenetic relationships and floral evolution of the Byttnerioideae “Sterculiaceae” or Malvaceae s.l.) based on sequences of the chloroplast gene ndhF. *Systematic Botany* 26:240-437.
- Zenteno, Z. M. Yerkes, Jr. D. W. Niederhauser. S. J. 1955. Primera lista de hongos de México *Arreglada por Huéspedes*. SECRETARIA DE AGRICULTURA Y GANADERIA.MEXICO, D. F. 43 Pp.
- Zentmyer, G. A. 1974. Variation, genetics and geographical distribution of mating types. In P. H. Gregory (Ed.), *Phytophthora disease of cocoa*. New York: Longman.
- Zentmyer, G. A. 1983. The world of *Phytophthora*. Pages 1-7 in: *Phytophthora Its Biology, Taxonomy, Ecology, and Pathology*. D. C. Erwin, S. Bartnicki-Garcia, and P. H. Tsao, eds. Am. Phytopathol. Soc., St. Paul. Mn.
- Zentmyer, G.A. and Mitchell, D.J. 1986. *Phytophthora* diseases of fruit trees in the tropics. *Trop Path* (2): 287 – 309.
- Zentmyer, G. A. 1987. Taxonomic relationship and distribución *Phytophthora* species causing black pod of cacao. Proceedings of the Tenth International Cocoa Research Conference. (P.p. 391-395). U.S.A.

IX. APENDICE

ANEXO.1 Fragmentos del gen codificante del 18S ARN ribosómico de aislados de *Phytophthora* secuenciados.

>CPCMA1

AAGCCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCTA
CTCGATAGTACCTTACTACTTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTTGT
CGGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAATAACTGT
GCGGATCGCGCTTTTGC GCGATAAAATCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCTA
CCATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACATC
CAAGGAAGGCAGCAGGCGCGTAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTCT
GGTCTCCAGTCCGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCT
GGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGTCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTG
GATTTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTTGTGAG
GCTGCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAG
CAGGCGTTTGCTCATTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGC
ACACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGGTATTCAATTTTCAGCGTCAGAGGTGAAATTCTTGGATCG
CTGAAAAGATGAGCTTAGGGCAAAGCATTACCAAGGATGTTTTCAATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG
AAGATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAAT
GACCTTGTGAGCAGCGTATGAGAAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTA
AAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACTTACC
AGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTT
TTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTAC
CATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAAC
AGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGCACGCGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGTATACAACCTTG
ATCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTGAATGCGCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAACG
AGGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCAATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCCG
ACCTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCTTCATTGCGAGTGGATTGATGGG
AACTTTTTTAAACCTCGCCATA

>CPCMA2

ATAGTCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCT
ACTCGATAGTACCTTACTACTTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTT
GTCGGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAATAACT
GTGCGGATCGCGCTTTTGC GCGATAAAATCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCT
ACCATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACAT
CCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGTAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTC
TGGCTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCT
GGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGTCAGTTAAAAAGCTCGTAAGGT
TGGATTTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTTGT
GAGGCTGCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTA
AAAGCAGGCGTTTGCTCATTTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTG
GTTTGCACACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGGTATTCAATTTTCAGCGTCAGAGGTGAAATTCT
TGGATCGCCTGAAAAGATGAGCCTTAGGGCAAAGCATTTTACCAACGGAATGTTTTTCATTAATCAAGAACGAAA
GTTAGGGGATCGAAGATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCG
TTTACCTTAAATGACCTTGTGAGCACCATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGGAGTATGGTCCGAA
GGCTGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACG
GGAAAACCTACCAGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGT
GCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAAT
AGTTCGCTTACCATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTG
GAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGCACGCGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGT
ATACAACCTTGATCGATAGTCTGGGTAATCTTGTGAATGCGCATCGTGTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTC
AGTCTGAACGAGGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCACTAGCTGATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTATACACA
CCGCCCCGTCGACCTACCATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCTTCATTGCGAGT
GGATTGATGGGAACTTTTT

>CPCM01 NCBI (MF783050)

TTACCCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCT
ACTCGATAGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTT
GTCGGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAATAACT
GTGCGGATCGCGCTTTTGC GCGATAAATCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCT
ACCATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTGATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACAT
CCAAGGAAGGCAGCAGGCGGTAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTC
TGGCTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCT
GGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTG
GATTTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCGTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTGTGAG
GCTGCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTTAAAG
CAGGCGTTTGCTCATTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGC
ACACCAGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTCATATTTACGCGTCAGAGGTGAAATTTGGATCG
CTGAAAGATGAGCTTAGGCGAAAGCATTACCAAGCATGTTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG
AAGATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAAT
GACCTTGTGACGACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTA
AAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTACC
AGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTT
TTAGTTGGTGGAGTGATTTGCTGGTTAATTCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTAC
CATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAAC
AGGCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGATTCATGCTAGGATGATGCGTTTACAGGTTACACACTTG
ATCGATAGGCTGGGTAATCTGTGAATGCGCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAACG
AGGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTGC
ACCTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCTTCATTGCGAGTGGATTGATGG
AACTTTTTTAAACCTCGCCATTTAGAA

>CPCM02 NCBI (MF784270)

TGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCTACTCGAT
AGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTTGTTCGGGC
GGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAATAACTGTGCGGA
TCGCGCTTTTGC GCGATAAATCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCTACCATTG
CATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTGATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACATCCAAGGA
AGGCAGCAGGCGCGTAAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTCTGGCTCT
TCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCC
AGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGGATTT
TGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCGTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTGTGAGGCTGCC
TTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTTAAAGCAGGC
GTTTGCTCATTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTGCACACC
AGGTAATGATTAATAGGGACAGTGGGGGTATTCATATTTACGCGTCAGAGGTGAAATTTCTGGATCGTGAA
AGATGAGCTTAGGCGAAAGCATTACCAAGGATGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGAT
GATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAATGACCTTG
TCAGCACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAA
TTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTACCAGGTCC
AGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTT
GGTGGAGTGATTTGCTGGTTAATTCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTACCATTTT
TGGTAGGTTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAACAGGTCT
GTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGTATACAACCTTGATCGAT
AGGTCTGGGTAATCTGTGAATGCGCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAACGAGGAAT
TCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTGCACCTACC
GATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCTTCATTGCGAGTGGATTGATGGAACTTTT
TTAAACCTCC

>CPCM03 NCBI (MF782852)

AAGCCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCTA
CTCGATAGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTTGT
CGGGCGGGTAGCATTTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAAATACTGT
GCGGATCGCGCTTTTTCGCGGATAAATCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCTA
CCATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACATC
CAAGGAAGGCAGCAGGCGGTAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTCT
GGCTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCT
GGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTG
GATTTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCGTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTGTGAG
GCTGCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTTAAAG
CAGGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTGGTTTTGC
ACACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTCATATTTACGCGTCAGAGGTGAAATTTGGATCG
CTGAAAGATGAGCTTAGGGCAAAGCATTACCAAGGATGTTTTTATTAAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG
AAGATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAAT
GACCTTGTGACACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTA
AAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTACC
AGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTT
TTAGTTGGTGGAGTGATTTGCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTAC
CATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAAC
AGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGTATACAACCTTG
ATCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTGAATGCGCATCGTCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTTCAGTCTTGAACG
AGGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGC
ACCTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCTTCATTGCGAGTGGATTGATGGG
AACTTTTTTAAACCTCGCCATACGAT

>CPCM04 NCBI (MF782870)

AAGCCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCTA
CTCGATAGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTTGT
CGGGCGGGTAGCATTTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAAATACTGT
GCGGATCGCGCTTTTTCGCGGATAAATCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCTA
CCATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACATC
CAAGGAAGGCAGCAGGCGGTAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTCT
GGCTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCT
GGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTG
GATTTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCGTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTGTGAG
GCTGCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTTAAAG
CAGGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTGGTTTTGC
ACACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTCATATTTACGCGTCAGAGGTGAAATTTCTGGATCG
CTGAAAGATGAGCTTAGGGCAAAGCATTACCAAGGATGTTTTTATTAAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG
AAGATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAAT
GACCTTGTGACACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTA
AAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTACC
AGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTT
TTAGTTGGTGGAGTGATTTGCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTAC
CATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAAC
AGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGTATACAACCTTG
ATCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTGAATGCGCATCGTCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTTCAGTCTTGAACG
AGGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGC
ACCTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCTTCATTGCGAGTGGATTGATGGG
AACTTTTTTAAACCTCGCCATAATGAAG

>CPCM05

ATAGCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTTGTACTGTGAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCTA
CTCGATAGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTTGT
CGGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAAATACTGT
GCGGATCGCGCTTTTGC GCGATAAGTCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCTA
CCATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACATC
CAAGGAAGGCAGCAGGCGGTAATAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGGCTCT
GGCTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCT
GGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTG
GATTTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTGTGAG
GCTGCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTTAAAG
CAGGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGC
ACACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGGTATTTCATATTTACAGCGTCAGAGGTGAAATTTGGATCG
CTGAAAGATGAGCTTAGGCGAAAGCATTACCAAGGATGTTTTTCAATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG
GAAGATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAA
TGACCTTGTACGACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTT
AAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTTAC
CAGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTT
CTTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTA
CCATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAGGAAGTTGGAGGCAATAA
CAGGTCGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGGCAGCTTACACTGATGCGTTCAAGGTTAGGGGATCAACA
TGATCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTGAATGCGCATCGTGTCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTTCAGTCTTGAA
CGAGGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCCGTC
GCACCTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCTTCATTGCGAGTGGATTGATG
GGAACTTTTTAAACCTCGCCATTATA

>CPCM06 NCBI (MF783018)

ATAGCCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTTGTACTGTGAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCT
ACTCGATAGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTT
GTCGGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAAATACT
GTGCGGATCGCGCTTTTGC GCGATAAGTCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCT
ACCATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACAT
CCAAGGAAGGCAGCAGGCGGTAATAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTC
TGGCTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCT
GGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTG
GATTTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGACATTTTTGTGAG
GCTGCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTTAAAG
CAGGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGC
ACACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTTCATATTTACAGGTCAGAGGTGAAATTTCTGGATCG
CTGAAAGATGAGCTTAGGCGAAAGCATTACCAAGGATGTTTTTCAATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG
AAGATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAA
GACCTTGTACGACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTA
AAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTTACC
AGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTT
TTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTAC
CATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAGGAAGTTGGAGGCAATAAC
AGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGTATACAACCTTG
ATCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTGAATGCGCATCGTGTCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTTCAGTCTTGAAACG
AGGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCCGTCG
ACCTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCTTCATTGCGAGTGGATTGATGG
AACTTTTTTAAACCTCGCCATTATA

>CPCM07

AGCCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCTAC
TCGATAGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTTGG
GGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAATAACTGTG
CGGATCGCGCTTTTTCGCGATAAGTCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCTACC
ATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACATCCA
AGGAAGGCAGCAGGGCGTAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTCTGG
CTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCTGGT
GCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGGAT
TTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTTGTGAGGCT
GCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAGCA
GGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGCAC
ACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTCATATTTACGCGTCAGAGGTGAAATTTGGATCGCT
GAAAGATGAGCCTTAGCGGAAAGCATTTACCAAGGATGTTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGCA
GATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAATGA
CCTTGTGACGACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAA
GGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTTACCAG
GTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTT
AGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTACC
ATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAACA
GGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGCCGCACGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGTATACAACTTGA
TCGATAGGTCTGGGTAATCTGTGAATGCGCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAACGA
GGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGCAC
CTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCCTTATTGCGAGTGGATTGATGGAA
CTTTTTTAAACCTCGCCCATAGA

>CPCM08 NCBI (MF783052)

CTGGCCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCT
ACTCGATAGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTT
GTCGGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAAATACT
GTCCGGATCGCGCTTTTTCGCGATAAATCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCT
ACCATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACAT
CCAAGGAAGGCAGCAGGGCGTAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTC
TGGCTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCT
GGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTG
GATTTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTTGTGAG
GCTGCCCTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAG
CAGGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGC
ACACCAGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTTCATATTTACGCGTCAGAGGTGAAATTTCTGGATCG
CTGAAAAGATGAGCTTAGGCGAAAGCATTTACCAAGGATGTTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG
AAGATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAAT
GACCTTGTGACGACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTA
AAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTTACC
AGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTT
TTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTAC
CATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAAC
AGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGCCGCACGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGTATACAACTTG
ATCGATAGGTCTGGGTAATCTGTGAATGCGCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAACG
AGGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGC
ACCTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCCTTATTGCGAGTGGATTGATGG
AACTTTTTTAAACCTCGCCATTTAGAA

>CPCM09 NCBI (MF783086)

AGCCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCTAC
TCGATAGTACCTTACTACTTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTTGGC
GGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAATAACTGTG
CGGATCGCGCTTTTTCGCGGATAAGTCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCTACC
ATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACATCCA
AGGAAGGCAGCAGGCGGTAATAATTACCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTCTGG
CTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCTGGT
GCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGGAT
TTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTTGTGAGGCT
GCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAGCA
GGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGCAC
ACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTCATATTTTCAGCGTCAGAGGTGAAATTTCTGGATCGCT
GAAAGATGAGCTTAGGCGAAAAGCATTTACCAAGGATGTTTTACATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGATCGAA
GATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAATGA
CCTTGTGACGACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAA
GGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTACCAG
GTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTT
AGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTACC
ATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAACA
GGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCTTACACTGATGCGTTCAACGAGTATACAACCTTGA
TCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTGAATGCCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAACGA
GGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGCAC
CTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCCTTATTGCGAGTGGATTGATGGGAA
CTTTTTTAAACCTCGCCATATGA

>CPCM10 NCBI (MF783086)

ATCCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCTAC
TCGATAGTACCTTACTACTTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTTGGC
GGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAATAACTGTG
CGGATCGCGCTTTTTCGCGGATAAATCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCTACC
ATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACATCCA
AGGAAGGCAGCAGGCGGTAATAATTACCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTCTGG
CTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCTGGT
GCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGGAT
TTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTTGTGAGGCT
GCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAGCA
GGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGCAC
ACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTCATATTTTCAGCGTCAGAGGTGAAATTTCTGGATCGCT
GAAAGATGAGCTTAGGCGAAAAGCATTTACCAAGGATGTTTTACATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAA
GATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAATGA
CCTTGTGACGACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAA
GGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTACCAG
GTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTT
AGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTACC
ATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAACA
GGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCTTACTGATGCGTTCAACGAGTATACAACCTTGA
TCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTGAATGCCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAACGA
GGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGCAC
CTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCCTTATTGCGAGTGGATTGATGGGAA
CTTTTTTAAACCTCGCCATAGTGAG

>CPCM11 NCBI (MF783088)

AAAGCCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCT
ACTCGATAGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTT
GTCGGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAAATACT
GTGCGGATCGCGCTTTTGC GCGATAAATCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCT
ACCATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTGATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACAT
CCAAGGAAGGCAGCAGGCGGTAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTC
TGGCTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCT
GGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTG
GATTTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTGTGAG
GCTGCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAG
CAGGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTG
ACACCAGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTTCATATTTTCAGCGTCAGAGGTGAAATTTGGATCG
CTGAAAGATGAGCTTAGGGCAAAGCATTACCAAGGATGTTTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGATCG
AAGATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAAT
GACCTTGTACGACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTA
AAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTACC
AGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTT
TTAGTTGGTGGAGTGATTTGCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTAC
CATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAAC
AGGCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCGCAGCGCGTACACTGATGCGTTCAACAGGTTAGGGCACTTG
ATCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTAATGCGCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAACG
AGGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCAATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGC
ACCTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCTTCATTGCGAGTGGATTGATGGG
AACTTTTTTAAACCTCGCCATAGGA

>CPCM12 NCBI (MF783089)

TGCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCTACT
CGATAGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTTGTG
GGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAAATACTGTG
CGGATCGCGCTTTTGC GCGATAAATCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCTACC
ATGGCATTAAACGGTAACGGGGAATTAGGGTTTGATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACATCCA
AGGAAGGCAGCAGGCGGTAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTCTGG
CTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCTGGT
GCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGGAT
TTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTTGTGAGGCT
GCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAGCA
GGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGCAC
ACCAGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTTCATATTTTCAGCGTCAGAGGTGAAATTTCTGGATCGCT
GAAAGATGAGCTTAGGGCAAAGCATTACCAAGGATGTTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAA
GATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAATGA
CCTTGTACGACCCGATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAA
GGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTACCAG
GTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTT
AGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTACC
ATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAACA
GGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGTATACAACCTTGA
TCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTGAATGCGCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAACGA
GGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCAATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGCAC
CTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCTTCATTGCGAGTGGATTGATGGAA
CTTTTTTAAACCTCGCCATAGGA

>CPCM13 NCBI (MF784087)

ATAGCCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCT
ACTCGATAGTACCTTACTACTTTGGATACCCGTAGTAATCTAGAGCTAATACATGCATAAAATACCCAAGTCTT
GTCGGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAATAACT
GTGCGGATCGCGCTTTTGC GCGATAAAGTCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCT
ACCATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTGATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACAT
CCAAGGAAGGCAGCAGGCGGTAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTC
TGGCTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCT
GGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTG
GATTTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGACATTTTTGTGAG
GCTGCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAG
CAGGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTGGTTTTGC
ACACCAGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTCATATTTTCAGCGTCAGAGGTGAAATTTGGATCG
CTGAAAGATGAGCTTAGGGCAAAGCATTACCAAGGATGTTTTTATTAAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG
AAGATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAAT
GACCTTGTACGACCCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTA
AAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTACC
AGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTT
TTAGTTGGTGGAGTGATTTGCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTAC
CATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAAC
AGGCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCGCAGCGCGTACACTGATGCGTTCAACAGGTTAGGGGATCG
ATCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTAATGCGCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAACG
AGGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGC
ACCTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCTTCATTGCGAGTGGATTGATGGG
AACTTTTTTAAACCTCGCCATAGAA

>CPCM14 NCBI (MF784089)

ATGCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCTAC
TCGATAGTACCTTACTACTTTGGATACCCGTAGTAATCTAGAGCTAATACATGCATAAAATACCCAAGTCTTGT
GGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAATAACTGTG
CGGATCGCGCTTTTGC GCGATAAATCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCTACC
ATGGCATTAAACGGTAACGGGGAATTAGGGTTTGATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACATCCA
AGGAAGGCAGCAGGCGGTAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTCTGG
CTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCTGGT
GCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGGAT
TTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTACGAGGCATTTTTTTGTGAGGCT
GCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAGCA
GGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTGGTTTTGCAC
ACCAGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTCATATTTTCAGCGTCAGAGGTGAAATTTGGATCGCT
GAAAGATGAGCTTAGGGCAAAGCATTACCAAGGATGTTTTTATTAAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAA
GATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAATGA
CCTTGTACGACCCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAA
GGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTACCAG
GTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTT
AGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTACC
ATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAACA
GGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGTATACAACCTTGA
TCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTGAATGCGCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAACGA
GGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGCAC
CTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCTTCATTGCGAGTGGATTGATGGAA
CTTTTTTAAACCTCGCCATAATGG

>CPCM15 NCBI (MF784264)

TGCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTGTACTGTGAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCTACT
CGATAGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTTGTG
GGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAATAACTGTG
CGGATCGCGCTTTTTCGCGATAAATCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCTACC
ATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACATCCA
AGGAAGGCAGCAGGCGTAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTCTGG
CTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCTGGT
GCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGGAT
TTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTTGTGAGGCT
GCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAGCA
GGCGTTTGTCTATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTGCAC
ACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTTCATATTTACGCGTCAGAGGTGAAATTTGGATCGCT
GAAAGATGAGCTTAGGCGAAAGCATTTACCAAGGATGTTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGCGAA
GATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAATGA
CCTTGTGACGACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGCTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAA
GGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTACCAG
GTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTT
AGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTACC
ATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAACA
GGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGCCGCACGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAAAGTTAGGACCTTGA
TCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTGAATGCGCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAACGA
GGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGCAC
CTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCCTTATTGCGAGTGGATTGATGGAA
CTTTTTTAAACCTCGCCATATGA

>CPCM16

AATGCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTGTACTGTGAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCTA
CTCGATAGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTTGT
CGGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAATAACTGT
GCGGATCGCGCTTTTTCGCGATAAAGTCGATTGAGTTTCTGCGCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCTA
CCATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACATC
CAAGGAAGGCAGCAGGCGGTAATTAACCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTCT
GGCTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCT
GGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTG
GATTTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTTGTGAG
GCTGCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAG
CAGGCGTTTGTCTATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTGC
ACACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTTCATATTTACGCGTCAGAGGTGAAATTTCTGGATCG
CTGAAAAGATGAGCTTAGGCGAAAGCATTTACCAAGGATGTTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG
AAGATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAAT
GACCTTGTGACGACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTA
AAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTACC
AGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTT
TTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTAC
CATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAAC
AGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGCCGCACGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGTATACAACCTTG
ATCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTGAATGCGCATCGTGCTAGGAATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAACG
AGGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGC
ACCTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCCTTATTGCGAGTGGATTGATGGG
AACTTTTTTAAACCTCGCCATA

>CPCM17

ATGGCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTTGTACTGTGAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCTA
CTCGATAGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTTGT
CGGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAAATACTGT
GCGGATCGCGCTTTTGC GCGATAAAGTCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCTA
CCATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACATC
CAAGGAAGGCAGCAGGGCGTAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTCT
GGCTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCT
GGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTG
GATTTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTGTGAG
GCTGCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAG
CAGGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGC
ACACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTTCATATTTTCAGCGTCAGAGGTGAAATTTGGATCG
CTGAAAGTACGCTTAGGGCAAGCATTACCAAGGATGTTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG
AAGATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAAT
GACCTTGTGACACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTA
AAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTACC
AGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTT
TTAGTTGGTGGAGTGATTTGCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTAC
CATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAAC
AGGCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCGCAGCGCGTACACTGATGCGTTCAACGAGGTAGGGGATCG
ATCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTGAATGCGCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAACG
AGGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGC
ACCTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCTTCATTGCGAGTGGATTGATGGG
AACTTTTTTAAACCTCGCCATAAG

>CPCM18

ATGCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTTGTACTGTGAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCTAC
TCGATAGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTTGT
GGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAAATACTGT
CGGATCGCGCTTTTGC GCGATAAAGTCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCTACC
ATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCGACCACATCCA
AGGAAGGCAGCAGGGCGTAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTCTGG
CTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCTGGT
GCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGGAT
TTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTTGTGAGGCT
GCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAGCA
GGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGCAC
ACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTTCATATTTTCAGCGTCAGAGGTGAAATTTGGATCGCT
GAAAGATGAGCTTAGGGCAAGCATTACCAAGGATGTTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAA
GATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAATGA
CCTTGTGACACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAA
GGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTACCAG
GTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTT
AGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTACC
ATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAACA
GGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGTATACAACCTTGA
TCGATAGGTCTGGGCTAATCTTGTGAATGCGCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAACG
AGGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGC
ACCTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCTTCATTGCGAGTGGATTGATGGG
AACTTTTTTAAACCTCGCCATA

>CPCM19

ATGACATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTTGTACTGTGAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCTA
CTCGATAGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTTGT
CGGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAAATACTGT
GCGGATCGCGCTTTTGC GCGATAAGTCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCTA
CCATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACATC
CAAGGAAGGCAGCAGGGCGTAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGGCTCT
GGCTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCT
GGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTG
GATTTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTGTGAG
GCTGCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAG
CAGGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGC
ACACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGGTATTCATATTTTCAGCGTCAGAGGTGAAATTTCTGGATCG
CTGAAAGATGACCTTAGGGCAAAGCATTACCAAGGGATGTTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATC
GAAGATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAA
TGACCTTGTGAGCACCATGAGAAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTT
AAAGGAATTGACGGAAGGGCCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTTA
CCAGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGT
TCTTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTT
ACCATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATA
ACAGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCGCAGCGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGTTAGGGGATC
TGATCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTAATGCGCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAA
CGAGGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTC
GCACCTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCTTCATTGCGAGTGGATTGATG
GGAACTTTTTTAAACCTCGCCATAGGT

>CPCM20

CGGCCCCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTTGTACTGTGAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCT
ACTCGATAGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTT
GTCGGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAAATACT
GTGCGGATCGCGCTTTTGC GCGATAAGTCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGCCT
ACCATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACAT
CCAAGGAAGGCAGCAGGGCGTAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTC
TGGCTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCT
GGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTG
GATTTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTGTGAG
GCTGCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAG
CAGGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGC
ACACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGGTATTCATATTTTCAGCGTCAGAGGTGAAATTTCTGGATC
GCTGAAAGATGAGCTTAGGGCAAAGCATTACCAAGGATGTTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATC
GAAGATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAA
TGACCTTGTGAGCACCATGAGAAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTT
AAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTTAC
CAGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGT
CTTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTA
CCATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAA
CAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGTATACAACCTT
GATCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTAATGCGCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAAC
GAGGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCG
CACCTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCTTCATTGCGAGTGGATTGATG
GAACTTTTTTTAAACCTCGCCAAATAGAAC

>CPCM21

CAGCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCTAC
TCGATAGTACCTTACTACTTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTTGG
GGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAATAACTGTG
CGGATCGCGCTTTTTCGCGATAAGTCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCTACC
ATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACATCCA
AGGAAGGCAGCAGGGCGTAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTCTGG
CTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCTGGT
GCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGGAT
TTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTTGTGAGGCT
GCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGTTGGTGGGCTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAGCA
GGCGTTTGCTCATTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGCAC
ACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTCATATTTACGCGTCAGAGGTGAAATTTGGATCGCT
GAAAGATGAGCTTAGCGGAAAGCATTTACCAAGGATGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGCACTGAA
GATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAATGA
CCTTGTGACGACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAA
GGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTTACCAG
GTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTT
AGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTACC
ATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAACA
GGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGCCGACGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAAATAGGACCTGGA
TCGATAGGTCTGGGTAATCTGTGAATGCGCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAACGA
GGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGCAC
CTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCCTTATTGCGAGTGGATTGATGGGAA
CTTTTTTAAACCTCGCCATAATAA

>CPCM22

TAAGCCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCT
ACTCGATAGTACCTTACTACTTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTT
GTCGGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAAATACT
GTCCGGATCGCGCTTTTTCGCGATAAGTCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCT
ACCATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACAT
CCAAGGAAGGCAGCAGGCGGTAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTC
TGGCTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCT
GGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTG
GATTTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTTGTGAG
GCTGCCCTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAG
CAGGCGTTTGCTCATTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGC
ACACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTTCATATTTACGCGTCAGAGGTGAAATTTCTGGATCG
CTGAAAAGATGAGCTTAGGCGAAAGCATTTACCAAGGATGTTTTTATTAAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG
AAGATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAAT
GACCTTGTGACGACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTA
AAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTTACC
AGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTT
TTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTAC
CATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAAC
AGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGCCGACGCGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGTATACAACCTTG
ATCGATAGGTCTGGGTAATCTGTGAATGCGCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAACG
AGGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGC
ACCTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCCTTATTGCGAGTGGATTGATGGG
AACTTTTTTAAACCTCGCCATTACAG

>CPCM23

ATTGCCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCT
ACTCGATAGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAAATACCCAAGTCTT
GTCGGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAATAACT
GTGCGGATCGCGCTTTTGC GCGATAAAGTCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCT
ACCATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTGATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACAT
CCAAGGAAGGCAGCAGGCGGTAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTC
TGGCTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCT
GGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTG
GATTTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCGTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTGTGAG
GCTGCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTTAAAG
CAGGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGC
ACACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTCATATTTACGCGTCAGAGGTGAAATTTGGATCG
CTGAAAGATGAGCTTAGGCGAAAGCATTACCAAGGATGTTTTTCAATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG
AAGATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAAT
GACCTTGTGACGACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTA
AAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTTACC
AGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTT
TTAGTTGGTGGAGTGATTTGCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTAC
CATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAAC
AGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGTATACAACCTTG
ATCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTGAATGCGCATCGTCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTTCAGTCTTGAACG
AGGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGC
ACCTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCCTTATTGCGAGTGGATTGATGGG
AACTTTTTTAAACCTCGCCATA

>CPCM24 NCBI (MF784267)

ATAGCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCTA
CTCGATAGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAAATACCCAAGTCTTGT
CGGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAATAACTGT
GCGGATCGCGCTTTTGC GCGATAAAGTCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCTA
CCATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTGATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACATC
CAAGGAAGGCAGCAGGCGGTAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTCT
GGCTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCT
GGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTG
GATTTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCGTACTTATGGATGTTTCGAGACATTTTTGTGAG
GCTGCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTTAAAG
CAGGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGC
ACACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTCATATTTACGCGTCAGAGGTGAAATTTCTGGATCG
CTGAAAGATGAGCTTAGGCGAAAGCATTACCAAGGATGTTTTTCAATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG
AAGATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAAT
GACCTTGTGACGACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTA
AAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTTACC
AGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTT
TTAGTTGGTGGAGTGATTTGCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTAC
CATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAAC
AGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGTATACAACCTTG
ATCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTGAATGCGCATCGTCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTTCAGTCTTGAACG
AGGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGC
ACCTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCCTTATTGCGAGTGGATTGATGGG
AACTTTTTTAAACCTCGCCATAATGAAG

>CPCM25

ATAGCCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCT
ACTCGATAGTACCTTACTACTTTGGATACCCGTAGTAATCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTT
GTCGGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAATAACT
GTGCGGATCGCGCTTTTGC GCGATAAAGTCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCT
ACCATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTGATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCGACCACAT
CCAAGGAAGGCAGCAGGCGGTAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTC
TGGCTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCT
GGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTG
GATTTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCGTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTGTGAG
GCTGCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTTAAG
CAGGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGC
ACACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTTCATATTTACGCGTCAGAGGTGAAATTTGGATCG
CTGAAAGATGAGCTTAGGCGAAAGCATTTACCAAGGATGTTTTTACATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG
AAGATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAAT
GACCTTGTGACGACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTA
AAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTTACC
AGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTT
TTAGTTGGTGGAGTGATTTGCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTAC
CATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAAC
AGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCGCACGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGTATACAACCTTAC
ATCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTGAATGCGCCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTGAGTCTTGAAC
GAGGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCG
CACCTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCTTCATTGCGAGTGGATTGATGG
GAACTTTTTTAAACCTCGCCATATGAAG

>CPCM26

AAAGCCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCT
ACTCGATAGTACCTTACTACTTTGGATACCCGTAGTAATCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTT
GTCGGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAATAACT
GTGCGGATCGCGCTTTTGC GCGATAAAGTCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCT
ACCATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTGATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACAT
CCAAGGAAGGCAGCAGGCGGTAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTC
TGGCTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCT
GGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTG
GATTTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCGTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTGTGAG
GCTGCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTTAAG
CAGGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGC
ACACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTTCATATTTACGCGTCAGAGGTGAAATTTCTGGATCG
CTGAAAGATGAGCTTAGGCGAAAGCATTTACCAAGGATGTTTTTACATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG
AAGATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAAT
GACCTTGTGACGACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTA
AAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTTACC
AGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTT
TTAGTTGGTGGAGTGATTTGCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTAC
CATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAAC
AGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCGCACGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGTATACAACCTTG
ATCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTGAATGCGCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTACGTTTGAACG
AGGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCG
ACCTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCTTCATTGCGAGTGGATTGATGG
AACTTTTTTAAACCTCGCCATAGGAG

>CPCM27

AGCCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCTAC
TCGATAGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTTGGC
GGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAATAACTGTG
CGGATCGCGCTTTTTCGCGGATAAGTCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCTACC
ATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACATCCA
AGGAAGGCAGCAGGCGGTAATAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTCTGG
CTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCTGGT
GCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGGAT
TTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTTGTGAGGCT
GCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAGCA
GGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGCAC
ACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTTCATATTTTCAGCGTCAGAGGTGAAATTTCTGGATCGCT
GAAAGATGAGCTTAGCCCTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCTTACATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGATCGAA
GATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAATGA
CCTTGTGACGACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAA
GGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAATGGAACCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTACCAG
GTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTT
AGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTACC
ATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAACA
GGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCTTACATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGATCGAA
TCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTGAATGCGCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAACGA
GGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGCAC
CTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCCTTATTGCGAGTGGATTGATGGAA
CTTTTTTAAACCTCGCCATAGGAAG

>CPCM28

AGCCATGCATGTCTAAGTATAAACACTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCTAC
TCGATAGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTTGGC
GGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAATAACTGTG
CGGATCGCGCTTTTTCGCGGATAAATCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCTACC
ATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACATCCA
AGGAAGGCAGCAGGCGGTAATAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTCTGG
CTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCTGGT
GCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGGAT
TTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTTGTGAGGCT
GCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAGCA
GGCGTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGCAC
ACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTTCATATTTTCAGCGTCAGAGGTGAAATTTCTGGATCGCT
GAAAGATGAGCTTAGCCGAAAGCATTTACCAAGGATGTTTTTACATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAA
GATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAATGA
CCTTGTGACGACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAA
GGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTACCAG
GTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTT
AGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTACC
ATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAACA
GGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCTTACACTGATGCGTTCAACGAGTATACAACCTTGA
TCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTGAATGCGCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAACGA
GGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGCAC
CTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCCTTATTGCGAGTGGATTGATGGAA
CTTTTTTAAACCTCGCCATTGA

>CPCM29

CAGCATGCATGTCTAAGTATAAAACACTTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCTAC
TCGATAGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAAGTCTTGGT
GGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAATAACTGTG
CGGATCGCGCTTTTTGCGCGATAAGTCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCTACC
ATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACATCCA
AGGAAGGCAGCAGGCGTAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTCTGG
CTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCTGGT
GCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGGAT
TTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTTTGTGAGGCT
GCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGTTGGTGGGCTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAGCA
GGCGTTTTGCTCATTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGCAC
ACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTCATATTTTCAGCGTCAGAGGTGAAATTTCTGGATCGCT
GAAAGATGAGCTTAGGCGAAAAGCATTTACCAAGGATGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAA
GATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAATGA
CCTTGTGACGACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAA
GGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTACCAG
GTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTT
AGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCGCTTACC
ATTTTTGGTAGGTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAACA
GGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGCCGCACGCGCTTACACTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAA
TCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTAATGCGCATCGTGCTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAACGA
GGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGCAC
CTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGTTGCTTCATTGCGAGTGGATTGATGGGAA
CTTTTTAAACCTCGCCATATGAG

>CPCM33 NCBI (EF426539)

ATAGCATGCATGTCTAAGTATAAAACACTTTTTATACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCTA
CTCGATAGTACCTTACTACTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATCAATACCCAAGTCTTGT
CGGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAATAACTGT
GCGGATCGCGCTTTTTGCGCGATAAATCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCTA
CCATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGAGGATCCAC
ATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGGTAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGC
TCTGGCTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGT
CTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGT
TGGATTTCTGCTTTGAGCGTCCGGTCCGCTTCTGTGAAGTGTGACTCTGGATGTTTGGAGCATTTTTTTGTGAGG
ATGTTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGTTGAACAGACTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAGC
AGGCGTTTGTCTGTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGACCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGCAC
ACCAGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTCATATTTTCAGCGTCAGAGGTGAAATTTCTGGATCGCT
GAAAGATGAGCTTAGGCGAAAAGCATTTACCAAGGATGTTTTTCAATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAA
GATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTGTTTAAATGAC
CTTGTGACGACCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAA
GGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTACCAG
GTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTT
AGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCGCTTACA
CTTTGTAGGTGGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAACAG
GTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGCACGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGTATAAACCTTGAT
CGACAGGTCTGGGTAATCTTTTGAATGCGCATCGTGCTAGGGATAGATGGTTGCAATTTTCCATCTTGAACGAG
GAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGCACC
TACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACTGTGAGTCCGTTTCTTTATTGCGAGTGGATTATGGGAAC
TTTTTAA

>CPCM34

AAAGCCATGCATGTCTAAGTATAAAACACTTTTGTACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATATCAGTTATAGTCT
ACTCGATAGTACCTTACTACTTTGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATAAATACCCAACCTGCTT
GTCGGGCGGGTAGCATTATTAGATTGAAACCAATGCAGTCTTCGGGCTGGTATTGTGTTGAGTCATAAATACT
GTGCGGATCGCGCTTTTGC GCGATAAGTCGATTGAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGATATGGGCCT
ACCATGGCATTAAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTTGATTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAAACGGCTACCACAT
CCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGTAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCTC
TGGCTCTTCGAGTCGGGCAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTAACGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCT
GGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTG
GATTTCTGTTTTGGATGTCCGGTCCGCTCCCTCTGGGAGTGCCTACTTATGGATGTTTCGAGGCATTTTTTGTGAG
GCTGCCTTTCTGCCATTAAGTTGGTGGGTTGGTGGGCTTGCATCGTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTTTAAAG
CAGGCGTTTGCTCATTGAATACATTAGCATGGAATAATAAGATACGGCCTTGGTGGTCTATTTTTGTTGGTTTTGC
ACACCAGGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGGTATTCATATTTTCAGCGTCAGAGGTGAAATTCTTGGATCG
CTGAAAGATGAGCTTAGGCGAAAGCATTTACCAAGGATGTTTTTCAATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG
AAGATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTCGGGATTGGCAGTCGTTTACCTTAAAT
GACCTTGTACGACCCGTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTA
AAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACTTACC
AGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTT
TTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCCGCGTGCTAAATAGTTCCGCTTAC
CATTTTTGGTAGGTTTTGTGGACTTCTTAGAGGGACTTTTGGGTAATCAAACCAAAGGAAGTTGGAGGCAATAAC
AGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGCACGCGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGTATACAACCTTG
ATCGATAGGTCTGGGTAATCTTGTGAATGCGCATCGTGTAGGGATAGACTGTTGCAATTTTCAGTCTTGAACG
AGGAATTCCTAGTAAACGCAAGTCATCAGCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGC
ACCTACCGATTGAATGACTCGGTGAAAAATTGGGACCGTGAGTCCGCTTGCTTCATTGCGAGTGGATTGATGGG
AACTTTTTTAAACCTCGCCATAATGAG