

MINISTERIO DE EDUCACIÓN SUPERIOR
UNIVERSIDAD DE GUANTÁNAMO

MAESTRIA: DESARROLLO AGRARIO SOSTENIBLE



Mención: Manejo agroecológico de ecosistemas frágiles

Tesis en opción al título académico de Máster en Ciencias.

TÍTULO: Evaluación de antagonistas microbianos de *Phytophthora palmivora* (Butl) Butl en los clones de *Theobroma cacao* L., UF – 650 y UF – 677 cultivados en Baracoa

Autor (a): Yannolis Matos Cueto

Guantánamo

Año: 2020



Universidad de
Guantánamo

MINISTERIO DE EDUCACIÓN SUPERIOR

UNIVERSIDAD DE GUANTÁNAMO

MAESTRÍA EN DESARROLLO AGRARIO SOSTENIBLE

Mención: Manejo agroecológico de ecosistemas frágiles

(Tesis presentada en opción al título académico de Máster en Ciencias)

TITULO de la tesis: Evaluación de antagonistas microbianos de *Phytophthora palmivora* (Butl) Butl en los clones de *Theobroma cacao* L., UF – 650 y UF – 677 cultivados en Baracoa.

Autor (a): Yannolis Matos Cueto

Tutor (es): Ing. Adrian Montoya Ramos. Dr C.

Consultante: Ing. Geysler Flores Galano. Dr. C.

Guantánamo

Año: 2020

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS

Nada de lo que vale la pena hacer puede hacerse solo, sino que debe hacerse en colaboración con otros.

Og Mandino

A Dios el creador por darme el conocimiento y la sabiduría.

Un agradecimiento especial a mi familia, por el apoyo incondicional durante tantos años en el desarrollo de mis estudios.

A la Revolución Cubana por permitirme estudiar y superarme en el campo de las ciencias agrícolas.

A los trabajadores de la Estación Experimental Agroforestal de Baracoa por su apoyo en la actividad investigativa.

A las trabajadoras del Centro de Reproducción de Entomófagos y Entomopatógenos de la Empresa Agroforestal y Coco de Baracoa.

Al tutor, el Doctor en Ciencias Adrián Montoya Ramos por su ayuda incondicional en la realización de este trabajo.

Al Doctor en Ciencias Geysler Flores Galano, por su desinteresada colaboración en la confección del presente documento.

A TODOS, MUCHAS GRACIAS

DEDICATORIA

DEDICATORIA

El esfuerzo y dedicación que he puesto en esta tesis va con mucho cariño a las personas que más amo y que en todo momento resultaron ser fuente de inspiración para lograr este propósito:

Mis padres Noide Matos Hinojoza y Oridia Cueto Laffita.

A mis hijos Sandra Matos Fabier y Sebastián Noa Fabier

A mi compañera de vida Mariuly Fabier Cobas

A mi hermana Orismay Matos Cueto, mis sobrinos Lietza Yaimí Samón Matos y Andriel Luis Samón Matos y a mi cuñado Jorge Luis Samón Pelier.

A la Estación Agroforestal Baracoa en la que he laborado 16 años de mi vida y ha sido mi único centro de trabajo.

RESUMEN

RESUMEN

Con el objetivo de estudiar la problemática fitosanitaria y el control de *Phytophthora palmivora* (Butl) Butl en los clones de cacao UF – 650 y UF – 677 en Baracoa. Se aplicó una encuesta fitosanitaria a técnicos de 10 de entidades productivas con plantaciones de cacao en producción. Se realizaron ensayos en el laboratorio de microbiología de la Estación Experimental Agroforestal- Baracoa, perteneciente al Instituto de Investigaciones Agroforestales (INAF), con aislamientos de *Trichoderma harzianum* Rifai, y *Trichoderma viride* Pers., donados por el Centro de Reproducción de Entomófagos y Entomopatógenos (CREE) perteneciente a la Empresa Agroforestal y Coco de Baracoa y un aislado de *Trichoderma sp* obtenido en la UBPC José Maceo Grajales. Los ensayos de campo se desarrollaron en la finca El Cayayal perteneciente a la CPA Mártires de Barbados del Consejo Popular Sabanilla. Para todos los ensayos y acorde con el diseño empleado se realizó análisis de varianza y se separaron las medias. El estudio demostró que de las diferentes plagas que atacan al cacao los técnicos reconocen a *P. palmivora* como el principal problema en los clones de estudio, se conoció el nivel de experiencia y las medidas empleadas. Los ensayos realizados en condiciones de laboratorio y campo evidenciaron un significativo efecto antagónico para las diferentes cepas de *Trichoderma spp.*, estudiadas y se demostró que la cepa autóctona de *Trichoderma sp.*, es promisoría por su efecto antagónico y debe pasar previa evaluación a su producción comercial en los CREEs del país.

Palabras Clave: Cacao, *Phytophthora*, *Trichoderma*, antagonismo

ABSTRACT

ABSTRACT

With the objective of studying the phytosanitary problem and the control of *Phytophthora palmivora* (Butl) Butl in the cocoa clones UF - 650 and UF - 677 in Baracoa. A phytosanitary survey was applied to technicians from 10 of productive entities with cocoa plantations in production. Tests were carried out in the microbiology laboratory of the Agroforestal-Baracoa Experimental Station, belonging to the Agroforestry Research Institute (INAF), with isolates of *Trichoderma harzianum* Rifai, and *Trichoderma viride* Pers., Donated by the Center for the Reproduction of Entomophages and Entomopathogens (CREE) belonging to the Agroforestry and Coco de Baracoa Company and a *Trichoderma* sp isolate obtained at the José Maceo Grajales UBPC. The field trials were carried out at the El Cayayal farm belonging to the CPA Martyrs de Barbados of the Sabanilla Popular Council. For all the trials and in accordance with the design used, an analysis of variance was performed and the means were separated. The study showed that of the different pests that attack cocoa, the technicians recognize *P. palmivora* as the main problem in the study clones, the level of experience and the measures used were known. The tests carried out in laboratory and field conditions showed a significant antagonistic effect for the different strains of *Trichoderma* spp., Studied and it was shown that the native strain of *Trichoderma* sp. Is promising due to its antagonistic effect and must undergo prior evaluation of its production commercial in the CREEs of the country.

Key words: cocoa, *Phytophthora*, antagonism, *Trichoderma*

ÍNDICE

INDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	6
2.1. Origen, importancia y clasificación del cacao.	6
2.1.1 El cultivo de <i>Theobroma cacao</i> L.	6
2.1.2 Taxonomía y razas cultivadas.	8
2.1.3 Clasificación por grupos genéticos	8
2.2 Descripción botánica del cacao.	10
2.3 Requerimientos ambientales.	13
2.4 Manejo agronómico de la plantación.	14
2.5 Importancia del cultivo del cacao.	15
2.6 Características de los clones UF	16
2.7 Factores limitantes de la producción de cacao.	17
2.8 Generalidades de <i>Phytophthora spp.</i>	20
2.8.1 Clasificación taxonómica.	22
2.8.2 <i>Phytophthora palmivora</i> como plaga de importancia para el cacao.	22
2.9 Manejo de plagas en cacao.	23
2.10 Control biológico.	24
2.11 El uso de hongos endófitos en la agricultura.	25
2.12 Importancia agrícola del género <i>Trichoderma</i> como agente de biocontrol	28
III. MATERIALES Y MÉTODOS	30
3.1 Ubicación del área experimental	30
3.1.1 Potencialidad de <i>Phytophthora palmivora</i> como plaga en la producción de cacao.	30
3.1.1.1 Percepción de los técnicos sobre el control de <i>P. palmivora</i> en la producción de cacao.	30
3.2 Evaluar productos fitosanitarios en condiciones de laboratorio y campo para el control de <i>Phytophthora palmivora</i> en los clones UF – 650 y UF – 677.	32
3.2.1 Evaluación de productos fitosanitarios en condiciones de laboratorio para el control de <i>Phytophthora palmivora</i> .	32
3.2.1.1 Activación y siembra de antagonistas.	32
3.2.1.2 Activación del patógeno.	33
3.2.1.3 Crecimiento radial de antagonistas.	33

	3.2.1.4 Evaluación del biocontrol antagonista de <i>Trichoderma harzianum</i> , <i>viride</i> y <i>Trichoderma sp.</i> , contra <i>Phytophthora palmivora</i> .	34
	3.2.1.5 Diseño experimental y análisis estadístico	34
	3.2.2 Evaluación de productos fitosanitarios en campo para el control de <i>Phytophthora palmivora</i> en los clones UF – 650 y UF – 677.	35
	3.2.2.1 Diseño experimental y análisis estadístico	35
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN		37
4.1	Potencialidad de <i>Phytophthora palmivora</i> como plaga en la producción de cacao.	37
4.1.1	Percepción de los técnicos sobre el control de <i>P. palmivora</i> en la producción de cacao.	37
4.2	Evaluar productos fitosanitarios en condiciones de laboratorio y campo para el control de <i>Phytophthora palmivora</i> en los clones UF – 650 y UF – 677.	45
4.2.1	Evaluación de productos fitosanitarios en condiciones de laboratorio para el control de <i>Phytophthora palmivora</i> .	45
4.2.1.1	Evaluación del antagonista o capacidad de biocontrol.	48
4.2.2	Evaluación de productos fitosanitarios en campo para el control de <i>Phytophthora palmivora</i> en los clones UF – 650 y UF – 677.	50
V. CONCLUSIONES		60
VI. RECOMENDACIONES		61
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		
VIII. ANEXOS		

INTRODUCCIÓN

I.-INTRODUCCIÓN:

El cacao (*Theobroma cacao* Lin.) es un cultivo importante en el mundo, especialmente en países tropicales. Esta especie se desarrolla en diferentes agroecosistemas bajo sombra, mayormente de árboles frutales (Anzules *et al.*, 2018). Es una planta que se cultiva en los trópicos húmedos, nativa del centro y noroeste de América del Sur. De sus semillas fermentadas y secas se obtiene el chocolate y cuatro productos intermedios: torta de cacao, manteca de cacao, cacao en polvo y licor de cacao. Además de su utilización como alimento tiene aplicaciones farmacéuticas y cosméticas (Bhattacharjee y Kumar, 2007; Aikpokpodion, 2012).

Tradicionalmente, los dos principales grupos genéticos del cacao (*Theobroma cacao*), se definieron, basado en características morfológicas y origen geográfico, son el “Criollo” y el “Forastero”. Un tercer grupo “Trinitario”, consiste en una hibridación de “Criollo” x “Forastero” (Cheesman E, 1944). Paralelamente los botánicos describían dos subespecies: *cacao* y *Sphaeorocarpum*, Criollo y Forastero, respectivamente; los cuales de acuerdo a algunos autores evolucionaron en Centro y Sur América, respectivamente (IBERIACOCOATRADING, 2016).

Los resultados obtenidos en las más recientes investigaciones acerca del germoplasma del cacao (Motamayor *et al.*, 2008), llevó a proponer 10 grupos genéticos: Maraño, Curaray, Criollo, Iquitos, Nanay, Contamana, Amelonado, Purus, Nacional y Guiana. Esta nueva clasificación refleja de una manera más precisa la diversidad genética para los mejoradores que la tradicional (Criollo, Forastero, Trinitario).

Bidot, (2015) clasificó sobre la base de los descriptores morfológicos 539 plantas de cacao tradicional cubano en los grupos tradicionales Criollo, Forastero y Trinitario. Sin embargo, con la utilización de técnicas de análisis molecular (marcadores micro satélites) pudo clasificarlas en 7 grupos de los propuestos por (Motamayor *et al.*, 2008)

En el mundo se producen anualmente 4,3 millones de toneladas de grano de cacao (ICCO, 2011) de los cuales 74,9 % se concentran en África Occidental, 12,1 % en el

sureste asiático y 13 % en América Latina. Costa de Marfil produce 35 % de la producción mundial (Solís *et al.*, 2015).

En América, el cacao se cultiva desde México hasta Brasil; este último es el más importante en hectáreas sembradas, ya que representa el 40% del total de la región. Los países que le siguen en cantidad de hectáreas sembradas son Ecuador (24%), Colombia (9%), República Dominicana (9%), Perú (6%) y Venezuela (4%) (FAO, 2018).

Suárez *et al.* (2015), plantean que en Cuba la producción de cacao está concentrada en la región oriental, específicamente en las zonas montañosas de las provincias de Guantánamo, Holguín, Santiago de Cuba y Granma. Las primeras tres pertenecen al macizo montañoso Nipe-Sagua-Baracoa, grupo orográfico que soporta el 94 % de la superficie total plantada.

González (2007), describe que las plagas en el cultivo del cacao son las responsables en la merma de hasta el 60 % de la producción. Entre las que más afectan las plantaciones se encuentra la pudrición negra de las mazorcas, ocasionada por especies del género *Phytophthora*, la principal causa de pérdidas de cosecha a nivel mundial, Se conocen cuatro especies principales que causan la enfermedad, las cuales varían, en su agresividad y el daño causado al fruto. De estas, *Phytophthora megakarya* Brasier & M.J. Griffin es la más agresiva, ya que puede disminuir la producción entre 60 y 100 %.

Existe un complejo de agentes causales de plagas que afectan la producción de este rubro exportable, donde se debe destacar que *Phytophthora palmivora* (Butl) Butl es la que más daños ocasiona en Cuba y el Mundo, debido a que se encuentra presente en todas las plantaciones con mayor o menor índice de infestación. (Alioscha *et al.*, 2014).

Algunos autores como Matos *et al.* (2011); Matos *et al.* (2013); Matos *et al.* (2016), han informado sobre la resistencia de una serie de individuos en condiciones de campo, basados en la metodología de Phillips y Galindo, (1989), consistente en la inoculación de los frutos con esporas del microorganismo. Sin embargo, este estudio debe realizarse de una forma más minuciosa y certera, determinando cuales son los

factores que favorecen la aparición y severidad de esta plaga, lo que contribuirá a proponer a los productores, clones con excelentes caracteres productivos y que sean capaces de tolerar los daños que provoca esta plaga. Para controlar la infección por *Phytophthora*, se aplican métodos encaminados a reducir la población del patógeno y evitar la diseminación de la enfermedad (Agrios, 2005). Actualmente se conoce que en el cacao la especie más implicada en las condiciones de Cuba es *Phytophthora palmivora* (Matos *et al.*, 2011), (Fernández *et al.*, 2018).

El manejo adecuado de las plagas causadas por *Phytophthora* spp. requiere de nuevas alternativas que sean amigables con el ambiente. En este contexto emergen agentes de control biológico y compuestos naturales que se evalúan cada vez con mayor frecuencia. (González-Peña *et al.*, 2016).

Acosta y Villa (2016), refieren que es importante encontrar alternativas de manejo de bajo costo, que permitan aumentar la productividad y competitividad de los productores que tienen cultivos de pequeña escala comercial de cacao y que a su vez mejoren las condiciones ambientales en sus territorios.

El manejo de *Phytophthora* en plantaciones de *T. cacao* incluye métodos culturales, físicos, químicos, biológicos y genéticos. Los microorganismos antagonistas ofrecen una alternativa ecológica para el manejo de plagas que afectan cultivos de importancia económica. Su aplicación en ecosistemas agrícolas sostenibles contribuye de manera substancial al mejoramiento de los suelos, la disminución del uso de productos químicos en la agricultura y la protección del ambiente. Varios estudios evidenciaron la eficiencia de los grupos microbianos *Trichoderma*, *Pseudomonas* y *Bacillus* como antagonistas ante *Phytophthora palmivora* (Butl) Butl (Hernández *et al.*, 2014).

Dentro de los controladores más utilizados se encuentra el *Trichoderma* spp. (Yuan *et al.*, 2016; Tuão Gava y Pinto, 2016). Este tiene un modo combinado de acción. En primer lugar, actúa directamente ya que parasita a su presa envolviéndola para de esta manera romper su pared y luego alimentarse. En segundo lugar, produce enzimas y antibióticos que evitan el crecimiento de los patógenos.

La Estación Experimental Agroforestal de Baracoa, perteneciente al Instituto de Investigaciones Agroforestales, ha realizado estudios sobre la resistencia o tolerancia a *P. palmivora* de una gran serie de individuos introducidos y prospectados en Cuba, que se encuentran localizados en el banco de germoplasma de la entidad. Estos resultados han aportado una valiosa información sobre el nivel de agresividad o severidad que ha mostrado esta plaga en las condiciones edafoclimáticas de Baracoa, municipio mayor productor de este cultivo en Cuba.

En la actualidad se ha observado la reacción ante este patógeno en más de una centena de accesiones de cacao presentes en este banco, único de su tipo en el país, el cual atesora una riqueza genética de más de 230 accesiones (Matos *et al.*, 2016).

Los clones UF fueron introducidos en Cuba hace más de tres décadas y han manifestado buenas características de producción, rendimiento y adaptabilidad, dentro de ellos fundamentalmente se encuentran los UF- 650 y 677 mayormente extendidos en las plantaciones productivas, sin embargo, estudios de resistencia a *P. palmivora* han demostrado su susceptibilidad ante este patógeno. Por estas razones planteamos como:

Problema a resolver: ¿Cómo mitigar las afectaciones ocasionadas por *P. palmivora* en los clones UF – 650 y UF – 677 en Baracoa?

Hipótesis: La percepción de los técnicos sobre la peligrosidad de *P. palmivora* y su control, unido al estudio de microorganismos con efecto antagónico sobre esta plaga, proporcionarían información útil para adicionar al manejo de esta, en los clones UF – 650 y UF – 677 en Baracoa.

Objeto de investigación: La pudrición parda de las mazorcas del cacao ocasionada por *Phytophthora palmivora* (Butl) Butl.

Campo de acción: Las plantaciones de cacao con clones UF – 650 y UF – 677 de Baracoa.

Objetivo general: Estudiar la problemática fitosanitaria y el control de *Phytophthora palmivora* (Butl) Butl en los clones de cacao UF – 650 y UF – 677 en Baracoa.

Objetivos específicos:

1. Valorar la peligrosidad como plaga de *Phytophthora palmivora* (Butl) Butl en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) en Baracoa.
2. Evaluar microorganismos con efecto antagónico en condiciones de laboratorio y campo para el control de *Phytophthora palmivora*, en los clones UF – 650 y UF – 677 en Baracoa.

**REVISIÓN
BIBLIOGRÁFICA**

II.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA:

2.1. Origen, importancia y clasificación del cacao

2.1.1 El cultivo de *Theobroma cacao* L.

Theobroma cacao L. es una especie vegetal con centro de origen en los bosques húmedos de América del sur; sus granos y derivados son un insumo básico para la industria del chocolate, cosmética y farmacéutica (Zhang y Motilal, 2016). Es un árbol de tamaño mediano (5-8 m), aunque puede alcanzar alturas de hasta 20 m, cuando crece libremente bajo sombra intensa (Maridueña, 2011).

El género *Theobroma* es originario de América Tropical, específicamente de la cuenca alta del río Amazonas. El género posee algunas especies de gran relevancia económica en los trópicos, principalmente *T. cacao* y en mucho menor grado *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K.Schum. y *Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl. Las semillas de *T. cacao* se han empleado a lo largo de la historia para la preparación de bebidas y otros alimentos, como moneda, bebida ceremonial y tributo a Reyes. Esta especie se encuentra actualmente distribuida a lo largo de las regiones lluviosas de los trópicos, desde los 20° de latitud norte hasta los 20° de latitud sur (ICCO, 2011).

En México se encontró que los aztecas usaban las almendras del cacao no sólo para la preparación de bebidas sino también como moneda. Creían que el árbol del cacao era de origen divino y que su bebida confería discreción y sabiduría. Por eso Linneo asignó a la especie el nombre de *Theobroma*, que significa alimento de los dioses. En los tiempos de Cristóbal Colón, los mayas eran los verdaderos cultivadores de cacao; perfeccionaron su cultivo, aprendieron a curar y conservar las semillas y a hacer una bebida agradable. Ricos y pobres consumían la bebida en su dieta diaria y comerciaban el producto con los aztecas, quienes muy pronto llegaron a apreciar sus cualidades (Batista, 2009; Jaimes y Aranzazu, 2010).

El cultivo del cacao tiene su origen en el noreste de América del Sur (Alto Amazonas) luego se dispersó hacia el norte por la costa pacífica que comprende países como Colombia, Ecuador, Perú y Brasil, donde se ha encontrado una alta variabilidad genética. Desde este lugar de origen, las especies se fueron difundiendo y

evolucionando en dos grupos de cacao con características fenotípicas y genotípicas bien definidas, las cuales corresponden a los cacaos Criollo y Forastero (Enríquez, 2010).

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es uno de los cultivos que se produce principalmente en regiones tropicales de América Latina. La proporción de cacao producido en todo el mundo por los pequeños agricultores, corresponde casi al 90 % de la producción total, proviene de pequeñas granjas de menos de cinco hectáreas en países como Ecuador, Colombia, Brasil y República Dominicana, en el continente americano; Costa de Marfil, Ghana, Camerún y Nigeria, en África; e Indonesia, Malasia y Papúa Nueva Guinea, en Asia y Oceanía (Franzen y Borgerhof, 2007; ICCO, 2012).

Desde la colonización española, el cultivo se ha extendido a otros países, que hoy son líderes en la producción mundial; se cultiva principalmente en 13 países, como Costa de Marfil, Ghana, Nigeria y Camerún en el continente africano, con cerca del 60% de la cosecha mundial, que significa 1,6 millones t. En el continente americano, el mayor productor es Brasil con el 18 %; le siguen Ecuador con el 6 %, Colombia y México contribuyen con el 1 % de la producción mundial. Se estima que más de 20 millones de personas dependen directamente de este cultivo para subsistir y que el 90 % de la producción se cosecha en minifundios con menos de 5 ha (Ramírez, 2008).

Pérez *et al.* (2015), refieren que la producción mundial de cacao (*Theobroma cacao* L.) en 2012 fue de 5 millones de toneladas, Costa de Marfil es el principal productor mundial con 1,65 millones de toneladas, los países del continente africano aportan el 69,6 %, Asia y Oceanía 17 % y América 13,4 % del total de cacao producido a nivel mundial.

Según Suárez, (2015) En Cuba, el cacao se cultiva principalmente en la región oriental y se dedican actualmente más de 8 500 hectáreas siendo la provincia de Guantánamo, donde se encuentra la mayor superficie y producción dedicada al cultivo, con un 76 % y 91 %, respectivamente; distribuida en seis municipios. En la provincia de Santiago de Cuba se dedican cuatro municipios; en Granma y en Holguín tres municipios.

Las unidades productivas se distribuyen en: 28 CPA, 32 UBPC, 76 CCS que incluyen a 476 usufructuarios, tres Granjas Integrales Militares (EJT) y cinco Granjas Estatales. La producción es atendida por 13 empresas agroforestales, que realizan la fermentación y el secado del grano cosechado.

Cuba centra la producción de cacao en el municipio de Baracoa, región oriental del país. Esta área posee condiciones climáticas apropiadas para el cultivo; alto nivel de precipitaciones, humedad y temperatura (Hartmann y Larramendi, 2011).

Según datos aportados por la Oficina Nacional de Estadística e Información (ONEI, 2019) en el año 2018 en Baracoa se vendieron 764,9 toneladas de cacao y el rendimiento fue de 0,4 toneladas por hectáreas.

2.1.2 Taxonomía y razas cultivadas

Según Pérez, (2018) *Theobroma* y otros dos géneros, *Herrania* y *Guazuma*, pertenecen a la familia Malvaceae. El cacao (*Theobroma cacao* L.) es uno de los más importantes cultivos tropicales y posee dos centros de diversidad reportados: uno en la Amazonia de América desde el Sur de Colombia y Venezuela hasta el este del Perú y Bolivia en el Sur, y otra área de diversificación en México, América Central y las islas del Caribe.

La clasificación botánica es la siguiente:

Reino: Plantae

División: Tracheophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Malvales

Familia: Malvaceae

Género: *Theobroma*

Especie: *Theobroma cacao* Lin.

2.1.3 Clasificación por grupos genéticos

Paredes (2009), refiere que el cacao está clasificado en cuatro grupos tradicionales: Los Forasteros, conocidos también como cacaos Amazónicos y/o amargos son originarios de América del Sur. Su centro de origen es la parte alta de la cuenca del

Amazonas en el área comprendida entre los ríos Napo, Putumayo y Caquetá (Soria, 1966). Es la raza más cultivada en las regiones cacaoteras de África y Brasil y proporcionan más del 80 % de la producción mundial. Los forasteros se caracterizan por sus frutos de cáscara dura y leñosa, de superficie relativamente tersa y de granos aplanados, pequeños de color morado y sabor amargo.

Las mazorcas en estado inmaduro son de colores verde y amarillo cuando han alcanzado su madurez, presentan forma de cuello de botella, las almendras son aplanadas con cotiledones de color morado. De este tipo de cacao se obtiene chocolate con sabor básico de cacao que proporciona el 80 % de la producción mundial. Dentro de esta raza se destacan distintas variedades como Cundeamor, Amelonado, Sambito, Calabacillo y Angoleta (Motamayor *et al.*, 2002).

Forastero multiplicado en la cuenca del río Orinoco. Este tipo de cacao abastece del 10 al 15% de la producción mundial. Es más resistente a plagas y ha podido adaptarse mejor a muchos ambientes, presenta sabor a cacao de medio a alto, usualmente asociado además con sabor a frutas y nueces. Este tipo de cacao es el que más se cultiva en América, presenta diversas formas intermedias de mazorcas al igual que su coloración desde tonos verdes y rojizos, e incluso una mezcla de ambos.

Criollo. Son árboles bajos y poco robustos, su copa es de color verde, gruesa, redonda con hojas pequeñas, y sus almendras son de color blanco marfil con sabor a nuez y fruta. La principal característica de este tipo de cacao está en la mazorca que es alargada, de colores verde y rojizo en estado inmaduro, y amarillo y anaranjado al alcanzar la madurez. El cacao Criollo ha sido domesticado y adaptado a diferentes regiones del planeta, lo que hace que sea más delicado y de poca productividad, y por ende más susceptible a plagas.

La variedad Nacional originaria de Ecuador se caracteriza por ser un cacao fino y de gran aroma y también pertenece a este grupo (Motamayor, 2001; Enríquez, 1992; CCI, 1991).

Trinitario. Es un resultado del cruce entre cacao Criollo de Trinidad (de ahí deriva su nombre). Según Motamayor, (2001) los cacaos Trinitarios están conformados por

híbridos que comprenden las mezclas entre el criollo y el forastero tipo amelonado, que aparentemente se mezclaron naturalmente en el Caribe, siendo los genotipos típicos de Granada, Jamaica, Trinidad y Tobago.

Este grupo aparentemente se originó cuando un genotipo criollo se cruzó naturalmente con un genotipo amelonado del Brasil. Por esta razón, estos materiales presentan características morfológicas y genéticas de ambas razas. Ocupan del 10 al 15 % de la producción mundial. Presentan granos de tamaño mediano a grande y cotiledones de color castaño (CCI, 1991; Soria, 1966).

Bidot *et al.* (2014), realizaron un estudio para la clasificación de 537 plantas de cacao tradicional cubano, tomaron como referencia 39 plantas clasificadas en los 10 grupos genéticos establecidos por Motamayor *et al.*, (2008). Bidot *et al.*, (2015a) Informan que los grupos genéticos más frecuentes, en los cuales se clasificó el mayor número de plantas cubanas, fueron Amelonado (331 plantas para un 61,64 %) y Criollo (147 plantas, 27,37 %). Las 59 plantas restantes se clasificaron en los grupos genéticos Marañón (29 plantas, 5,40 %), Iquitos (12 plantas, 2,23 %), Contamana (ocho plantas, 1,49 %), Nanay (seis plantas, 1,12 %) y Nacional (cuatro plantas, 0,75 %).

Bidot *et al.* (2015b), refieren que la distribución de las plantas de cacao cubano antiguo y de las plantas que presentan cotiledón de color blanco coincide con las plantaciones comerciales donde se produce el cacao en el país. El mayor número de plantas fueron localizadas en Baracoa, que concentra más del 70 % de la producción de cacao en Cuba y la menor cantidad de plantas se localizaron en el centro del país, donde la producción es muy reducida, con pocas plantas de cacao cultivadas por un número reducido de productores.

2.2 Descripción botánica del cacao

El cacao es una planta alógama, de ciclo vegetativo perenne y diploide ($2n=20$). Es alógama, ya que su polinización es cruzada, ubicándose por encima del 95 %. (Enríquez, 2010). Crece y se desarrolla usualmente bajo sombra en los bosques tropicales húmedos de América del Sur, alcanza alturas de 2 m hasta 20 m cuando tiene condiciones óptimas de crecimiento (sombra intensa, temperatura, viento, agua

y suelos apropiados). El cacao Nacional de Ecuador y el amelonado de África Occidental pueden alcanzar alturas de hasta 12 m (Batista, 2009).

La planta proveniente de semilla presenta un tronco vertical que puede desarrollarse en forma muy variada dependiendo de las condiciones ambientales, el cual empieza su etapa de producción a los dos años después de establecido en el campo. Las plantas de origen clonal obtenidas mediante injerto o estacas presentan una conformación diferente sin el predominio de un eje principal (Enríquez y Salazar, 1987).

Según Enríquez (2010), en la primera fase de crecimiento es ortotrópico (vertical), que perdura por 12-15 meses. Luego este crecimiento se interrumpe para dar lugar a la formación de 4 - 5 ramas secundarias (“horqueta”), que son de crecimiento plagiotrópico (horizontal), el cual puede variar su ángulo de desarrollo. Este tipo de árbol alcanza hasta 4 m de altura.

El cacao posee una raíz principal pivotante, sus hojas son simples, enteras y de colores variables que van desde morado hasta verde pálido, con pecíolo corto, posee flores pequeñas, hermafroditas y pentámeras con cinco lóculos donde hay de 6 a 12 óvulos.

Las flores al igual que los frutos se producen en racimos pequeños, sobre el tejido maduro del tronco y de las ramas. Generalmente su polinización es entomófila, principalmente llevada a cabo por individuos del género *Forcipomya*. Una planta puede llegar a producir de 6 100 000 a 150 000 flores por año, de las cuales sólo se fecunda entre el 0,1 y 0,3 % por lo que las demás caen (Cope, 1976).

La raíz principal pivotante sirve de medio de anclaje; especialmente en los primeros meses de vida de la planta, puede crecer hasta 200 cm, el sistema de raíces secundarias absorbe los nutrientes y agua disponibles en el suelo. Su longitud y forma varían mucho de acuerdo principalmente con la estructura, textura y consistencia del suelo (Hardy, 1961).

Hojas: Las hojas adultas son simples y enteras, membranosas de tamaño medio, base obtuso - atenuada, margen entero, ápice largamente acuminado, coriáceas de color verde. Cuando jóvenes su coloración es variable de verde pálido a café claro,

hasta rojizas. Las hojas son caducas, cada dos o tres meses se presentan picos de brotación de nuevas hojas, que reemplazan a las que se caen (Rondón y Cumana, 2005).

Flores: Las flores de cacao son órganos complejos ya que poseen características que las hacen únicas, los órganos de reproducción son realmente importantes el momento de estimar la diferenciación genotípica de los clones (Bartley, 2005). Estas producen y desarrollan cojinetes florales, de color rosado, hermafroditas, de 10-20 mm de largo, pentámeras; es decir que están constituidas de cinco sépalos, pétalos, estaminodios, estambres, y lóculos por ovario, que crecen en simetría radiada. Ovario 2-3 mm de largo, oblongo-ovoide, pentagonal, pubescente. Las flores tienen una viabilidad de hasta dos días; luego de lo cual si no son fecundadas caen (Rondón y Cumana, 2005; Enríquez, 2010).

Los frutos maduran entre 5 y 6 meses después de la polinización. Poseen un mesocarpio con textura lisa o arrugada que se divide en cinco carpelos interiormente. Los frutos son de tamaño y forma muy variable, generalmente tienen forma de baya de hasta 30 cm de largo y 10 cm de diámetro. Tienen forma elíptica y son de diversos colores al madurar (rojo, amarillo, morado y café); contienen entre 20 y 40 semillas que están cubiertas de una pulpa mucilaginoso de color blanco, cuyos cotiledones pueden ser de color blanco y/o violetas. Las semillas una vez secas alcanzan pesos entre 0,8 y 1,5 g cada una (Mejía y Argüello, 2000).

Los frutos conocidos como mazorcas, son drupas bastante grandes que pueden variar ampliamente de forma, espesor, rugosidad, color y tamaño, según el origen genético, el medio ambiente donde crece y se desarrolla el árbol, así como el manejo de la plantación. Se observa toda una gama de colores, que en estado inmaduro va de tonos verdes, rojizos y cafés; con surcos y lomos pigmentados, mientras que en estado maduro varían de amarillo, café amarillento a rojizos anaranjados. Las mazorcas de cacao por su forma están clasificadas como: amelonado, calabacillo, angoleta y cundeamor, variando según el genotipo (Batista, 2009).

Según Enríquez (2010), las semillas presentan una forma oblonga y varían mucho de tamaño según el tipo de cacao, tal es el caso del cacao Criollo y Nacional de

Ecuador; otros son aplanados en el caso de los Forasteros. La cantidad de semillas en cada mazorca depende del número de óvulos en cada ovario. Tienen un recubrimiento o cutícula que protege los cotiledones. En la parte exterior se encuentra el mucílago, que es la pulpa dulce de la semilla, lo que permite diferenciar algunos genotipos de cacao. El color del cotiledón de la semilla también varía de acuerdo con el genotipo, desde blanco ceniciento, blanco puro, hasta un morado oscuro y todas las tonalidades intermedias. La semilla está constituida por dos cotiledones que contienen grasa, alcaloides, taninos y otras sustancias que al alterarse dan origen al sabor y olor del chocolate manufacturado. (Hardy, 1961).

Las semillas de cacao no requieren de reposo para germinar, mueren al poco tiempo cuando sufren deshidratación. El tiempo desde la fecundación hasta la madurez fisiológica de una mazorca es de alrededor de 180 días. No toleran la desecación por ser recalcitrantes, reduciéndose su energía germinativa si son almacenadas (López y Gil, 2017).

2.3 Requerimientos ambientales

Dentro de los requerimientos ambientales existen tanto las condiciones climáticas como las condiciones de suelo. Los factores climáticos críticos para el desarrollo del cacao son la temperatura y la lluvia, y le siguen en importancia el viento, la luz, la radiación solar y la humedad relativa (Enríquez y Salazar, 1987).

El cacao se desarrolla bajo temperaturas medias anuales de 21 °C. Las temperaturas extremas muy altas y bajas pueden provocar alteraciones fisiológicas en el árbol. La temperatura determina la formación de flores. Por ejemplo, si esta es menor de 21 °C, la floración es mucho menor que a 25 °C, donde la floración es normal y abundante. Esto provoca que en determinadas zonas la producción de mazorcas sea estacional y durante algunas semanas no haya cosecha, cuando las temperaturas son inferiores a 22 °C (Enríquez y Salazar, 1987).

Maridueña, (2011), refiere que es una planta que necesita un adecuado suministro de agua para efectuar sus procesos metabólicos. La precipitación y la temperatura son factores de mucha importancia debido a su relación con el desarrollo, floración y fructificación del cultivo de cacao controlando la actividad de las raíces y de los

brotos de la planta. La temperatura para el cultivo debe estar entre los valores siguientes: mínima de 23 °C, máxima de 32 °C, óptima de 25 °C.

Es una planta sensible a la escasez de agua, pero también al encharcamiento por lo que se precisarán de suelos provistos de un buen drenaje. Los rangos óptimos de agua oscilan entre 1500 y 2500 mm en las zonas bajas más cálidas y entre 1200 y 1500 mm en las zonas más frescas o los valles altos. Otro de los factores son los vientos, debido a que fuertes vientos y de manera continua pueden provocar un desecamiento, muerte y caída de las hojas. Por ello en las zonas costeras es preciso el empleo de cortavientos para que el cacao no sufra daños. Los cortavientos suelen estar formados por distintas especies arbóreas frutales o madereras, que se disponen alrededor de los árboles de cacao (Sánchez y Dubón, 1994).

Las bajas temperaturas y el aumento de la humedad relativa, provocan la aparición de plagas. Sin embargo, en zonas con altas temperaturas, el cultivo estará expuesto a un mayor nivel de afectación por insectos dañinos. (Suárez *et al.*, 2013)

El cacao requiere que los suelos sean muy ricos en materia orgánica, profundos, francos arcillosos, con buen drenaje y topografía regular. Se puede decir que el cacao es una planta que prospera en una amplia diversidad de tipos de suelo. Usualmente, las plantaciones están localizadas en suelos que varían desde arcillas pesadas muy erosionadas hasta arenas volcánicas recién formadas y limos, con pH que oscilan entre 4 y 7 (FUNDACITE, 1998).

2.4 Manejo agronómico de la plantación

Una buena producción de cacao depende de las prácticas agrícolas que se realizan en cada una de las fases fenológicas del cultivo como son: (a) Fundación; (b) Mantenimiento; (c) Recuperación; (d) Rehabilitación. Además, existen factores ecológicos como las condiciones de suelo y los factores climáticos que son críticos para el desarrollo del cacao como son las lluvias, la temperatura, la radiación solar y los vientos (López *et al.*, 1996; Enríquez, 2004).

- a) Fundación: comprende los cuatro primeros años de la plantación, desde la primera labor hasta que los árboles inician su producción. En esta fase es muy importante la selección y preparación del terreno, dando preferencia a

aquellos con buen drenaje (Enríquez y Salazar, 1987). También es básico el establecimiento de los diferentes tipos de sombra: sombra inicial, temporal y permanente.

Es ideal que las mismas se enmarquen dentro de un sistema agroforestal para darle mayor sostenibilidad al sistema. Algunas de las especies de sombra permanente más empleadas son: poró (*Erythrina poeppigiana* (Walp.) O.F.Cook), madre del cacao (*Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp.), terminalia (*Terminalia ivorensis* A. Chev.), caucho (*Hevea brasiliensis* Willd. ex A.Juss.) Müll.Arg.), laurel (*Cordia alliodora* (RUIZ & PAV.) OKEN 1841) y algunos frutales como el aguacate (*Persea americana* Mill., 1768), zapote (*Pouteria sapota* Jacq.) H.E.Moore & Stearn) y rambután (*Nephelium lappaceum* Lin), entre otros (Somarriba *et al.*, 1996).

- b) Mantenimiento: incluye aquellas prácticas que permiten mantener en buena forma la plantación cacaotera durante toda la época productiva. Estas prácticas de manejo incluyen: (1) El combate de malezas, la cual depende de la intensidad de luz que exista en el cacaotal, cultivo anterior y sustrato; (2) El aporque se realiza con el fin de ayudar a un mejor anclaje de los árboles después de dos años de sembrada la planta y (3) La fertilización varía de acuerdo a las condiciones de suelo y que a su vez depende de la etapa fenológica del cultivo.

Otra práctica fundamental son las podas periódicas, las cuales permiten modificar la conformación del árbol y a su vez facilita el control de plagas. La práctica consiste en eliminar todos los chupones y ramas innecesarias, así como también las partes enfermas y muertas del árbol. Se considera una labor cultural de gran importancia por su efecto directo sobre el crecimiento y producción de las plantaciones. Cuando esta práctica no se realiza los árboles alcanzan un gran desarrollo (10 - 20 m), con abundantes chupones y ramas con crecimientos diferentes.

- c) Recuperación: se realiza cuando la plantación de cacao es joven es decir menos de 20 años y la misma presenta problemas que se manifiestan por baja producción, en este caso es necesario reponer un máximo del 20 % del total de las plantas y

además realizar prácticas agronómicas que permitan incrementar la productividad del cultivo (FUNDACITE, 1998).

d) Rehabilitación: dado que las plantaciones viejas de cacao (más de 30 años) declinan en su producción, ellas requieren de una rehabilitación para reponer en forma total todas las plantas de cacao. Aunque el rendimiento de la plantación está influenciado por factores intrínsecos de la planta, éstos pueden ser modificados por el ambiente (Vera y Cabanilla, 1987).

2.5 Importancia del cultivo del cacao

El “cacao” es uno de los productos agrícolas de mayor importancia en el mundo, debido a que se obtienen subproductos de gran valor nutritivo. Es considerado como un superalimento debido a su capacidad antioxidante y el contenido de compuestos tales como polifenoles, los cuales están vinculados con potenciales beneficios para la salud. Además, posee otros compuestos orgánicos de utilidad farmacológica, por ejemplo, la cafeína, la teofilina y la teobromina. Siendo este último un potente estimulante cardiovascular y del sistema nervioso central. De igual manera, el ácido genístico se comporta como un potente antirreumático y analgésico.

Es un producto que tiene gran importancia, tanto en el ámbito nacional como internacional. Tradicionalmente, el cacao ha sido objeto de explotación comercial para la fabricación de chocolate, así como para su uso en las industrias alimentarias.

El comercio mundial de productos primarios, entre ellos el cacao en grano, es de significativa importancia, dado que la producción y el comercio de estos bienes constituyen la base de la economía nacional de la mayoría de los países subdesarrollados. Sin embargo, es de hacer notar que la importancia relativa de las exportaciones de productos primarios con respecto al valor total de exportaciones de los países subdesarrollados ha venido declinando. En 1980, por ejemplo, tales exportaciones de los países de América Latina y el Caribe representaban 82 % del valor total de las exportaciones de bienes, mientras que para el año 2001 esa cuota había descendido a 41 %.

De las almendras de cacao, fermentadas y secas (o sin fermentar) se obtienen subproductos y productos finales a través de procesos industriales. Los primeros son

la pasta o licor, la manteca, la torta y el polvo de cacao. Los productos finales de cacao son principalmente los chocolates y demás artículos elaborados a base de chocolate, tales como coberturas, golosinas, barras de chocolate amargo, de leche, blanco, con frutas, nueces, bombones, entre otros. Además, la manteca de cacao se emplea en la industria farmacéutica y en la elaboración de cosméticos (López y Gil, 2017).

2.6 Características de los clones UF

Los árboles bien manejados no deben sobrepasar los 4m de altura, con su producción en el tronco y ramas principales. Son altamente productivos, en fincas de productores se ha obtenido más de 1 t/ha. En condiciones de investigación se han obtenido más de 2 t/ha, sus mayores aportes productivos se producen en los meses de primavera (marzo, abril, mayo y junio). Las mazorcas son grandes, con un peso promedio entre 400 y 600 gramos, con un promedio de 30 a 40 granos por fruto. Los granos son grandes con un peso superior a 1,2 g (secos) llegando hasta 2 g. Las semillas presentan un tamaño y color uniforme lo que lo hacen muy bueno para la chocolatería. Tienen muy buen aroma por lo que se ha clasificado como del tipo Fino (Márquez y Aguirre, 2019).

Dentro de los clones estudiados en la investigación, se informó que los clones 'UF' son promisorios para la obtención de metabolitos secundarios, entre ellos fenoles totales y taninos que difunden al medio de cultivo (Fajardo *et al.*, 2020). Sin embargo, no se han identificado ni cuantificado los compuestos fenólicos presentes. Aún son insuficientes los trabajos relacionados con la obtención de estos compuestos en el cultivo in vitro y el empleo de métodos más eficientes para la identificación de la presencia de polifenoles en estos tipos de muestra.

Tanto la distancia como los métodos de agrupamiento basados en modelos mostraron que los clones de UF estaban compuestos principalmente de Trinitario, antiguo Nacional e híbridos entre la antigua Nacional y Amelonado. Este resultado llenó la brecha de información sobre los clones de UF mejorarán así su utilización para el desarrollo del cacao. Estos clones representan uno de los primeros grupos de germoplasma de cacao mejorado en el mundo. Algunos de estos clones de UF se

han utilizado como progenitores clave para mejorar la resistencia / tolerancia a las enfermedades Frosty Pod y Black Pod en las Américas (Mata-Quirós *et al.*, 2018).

Los clones UF, son originarios de la zona atlántica de Costa Rica fue seleccionado por la United Fruit Company, Colección privada y fue seleccionada, tiene una buena habilidad combinatoria, se desconoce cuando y por quién fue descrito. Los clones UF costarricenses, pueden utilizarse en programas de mejoramiento dado a las características sobresalientes de alta productividad, cierta tolerancia a *P. palmivora* entre otras características (Frances *et al.*, 2020).

2.7 Factores limitantes de la producción de cacao

Las plagas del cacao han constituido una de las principales limitantes de su cultivo en todo el mundo, cuantificándose pérdidas en 800 000 toneladas métricas (Phillips y Cerda, 2009; Ploetz, 2007; Ploetz, 2016).

Las tres principales plagas de *T. cacao* que limitan la producción mundial son la pudrición parda (causado por *Phytophthora* spp.), moniliasis (*Moniliophthora roreri* (CIF.) H.C. EVANS, STALPERS, SAMSON & BENNY y escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Singer (Bailey y Meinhardt, 2016). Estos fitopatógenos son capaces de limitar significativamente la producción comercial y reducir los rendimientos en un 20 %; por ejemplo, la disminución de la producción de *T. cacao* en el 2012 se estimó en 1,3 millones de toneladas de grano seco (Bailey y Meinhardt, 2016).

Ramírez, (2016) refiere a *P. palmivora* y otra especie no identificada con incidencias en frutos de cacao de 9,2 y 7,5 % respectivamente, en zona de vida de bosque húmedo tropical. La dispersión de esta enfermedad y el desarrollo de la epidemia ocurren al salpicar agua lluvia sobre los esporangios, encontrados en el suelo o en plantas infectadas, y por insectos vectores.

Según Ortiz, (2017) se reconocen cinco plagas mayores: La pudrición negra del cacao causada de manera dominante por *Phytophthora palmivora* (En el Caribe, centro y sub América, África y Asia) *Phytophthora megakarya* Brasier & M.J. Griffin (África) y el grupo *Phytophthora capsici* Leonian (en México y Sudamérica); la moniliasis del cacao provocada por *M. roreri* (sur y centro América y México); la es-

coba de Bruja *M. perniciosa* (América del sur); la traqueomicosis (Asia) y el Virus del Hinchamiento del Brote del cacao (África).

Otras plagas de importancia sólo en algunas regiones particulares y es algunas variedades están: el mal de machete (*Ceratocystis cacaofunesta* Engelbr. & T.C.Harr.); Las bubas del cacao (*Fusarium rigidiuscula* (Berk. & Broome) Rossman & Samuels); el mal de cintura (*Lasiodiplodia theobromae* Pat.) y las pudriciones del pie por *Rosellinia pepo* Pat. o *Armillaria mellea* (VAHL) P. UMM.), entre otros patógenos de menor importancia.

En México, después de la llegada de la moniliasis del cacao, aunque podrían enlistarse más de diez patógenos que están interactuando con los problemas sanitarios del cacao, son tres las plagas que deben de tomarse con mayor atención en el proceso productivo: la moniliasis y la mancha negra, en plantaciones productivas y mal de cintura (*L. theobromae*) o como muerte descendente, en plantaciones en desarrollo o con mal manejo de sombra, afín de lograr anualmente producciones rentables.

Se estima, que las pérdidas anuales por la mazorca negra, enfermedad producida por *Phytophthora* spp. son de alrededor del 30 % de la producción del cultivo (Drenth y Guest, 2013), lo que se traduce en aproximadamente 3,800 millones de dólares para los productores de todo el mundo. En algunos casos cuando las condiciones son adecuadas para el patógeno, las plantaciones de cacao pueden ser devastadas (Bailey y Meinhardt, 2016).

Diferentes factores afectan la producción de cacao en todo el mundo. Dentro de los factores bióticos, las plagas causadas por hongos y oomycetes constituyen las más importantes del cultivo. Dentro de estas se destacan la escoba de bruja causada por *Moniliophthora perniciosa*, la moniliasis provocada por *Moniliophthora roreri* y la pudrición negra de la mazorca (*Phytophthora* spp.) (Fagbohun y Lawal, 2011). Hasta el presente las dos primeras plagas no están informadas en Cuba y sus agentes causales pertenecen al grupo A1 de la lista de plagas cuarentenarias. Por otra parte, la pudrición negra de la mazorca constituye una de las plagas que con mayor frecuencia se detectan en plantaciones de cacao del país y con mayor impacto en la

producción (Matos *et al.*, 1998; Hubeaux, 2010; Acebo-Guerrero *et al.*, 2012; Hernández *et al.*, 2014).

En la región de Latinoamérica la situación de las especies de *Phytophthora* asociadas al cacao es la más compleja; están implicados varios taxas, cuyas identidades, diversidad genética, distribución geográfica e impacto están aún bajo discusión (Fister *et al.*, 2016). Esto puede estar ligado al hecho de que América del Sur es el área nativa de *T. cacao* con antiguas poblaciones dispersas a través del cauce del río Amazonas.

Las plantas de *T. cacao* se desarrollan en ambientes húmedos y sombreados, condiciones extremadamente favorables para el desarrollo de plagas. Entre las plagas más frecuentes que afectan a este cultivo se destacan la escoba de bruja (causada por el hongo *Moniliophthora perniciosa*); la moniliasis (causada por el hongo *Moniliophthora roreri*) y la pudrición negra del fruto producida por el oomycete *Phytophthora spp.*

Las plagas disminuyen directamente el potencial de producción y de calidad mediante la infección parcial o total de las fincas. Alcanzar productividades aceptables y/o de buena calidad sobre la presión de plagas son factores predominantes para el cultivo (ANECACAO, 2016).

La pudrición negra del fruto es un problema económico serio en todas las regiones del mundo donde se cultiva *T. cacao*, causando pérdidas significativas de las cosechas que pueden alcanzar del 60 al 100 % de la producción, dependiendo de las condiciones ambientales. (Hanada *et al.*, 2008), con un valor monetario de aproximadamente 423 millones de dólares anuales (Tchameni *et al.*, 2011) Esta plaga es una de las más temidas por los agricultores y aunque su distribución es mundial, afecta mayormente la producción de cacao en África del Oeste y África Central (Adebola y Amadi, 2010).

La práctica tradicional más común para la disminución y eliminación de los efectos perjudiciales, ocasionados por los agentes fitopatógenos se basa en el empleo de plaguicidas, práctica denominada control químico. Debido al enorme deterioro ambiental que supone la utilización indiscriminada de compuestos químicos, ha

generado un gran interés la búsqueda de sistemas ambientalmente sostenibles para el control de plagas. Una estrategia promisorio es la utilización de microorganismos antagonistas de los agentes infecciosos y que desplazan a estos de una manera natural, denominada control biológico (Rudy *et al.*, 2011).

En Cuba, la producción de cacao está concentrada en las provincias orientales. Según FAOSTAT, (2014) en el año 2012, para la producción de chocolate y sus derivados, se cultivaron en el país 4203 ha de cacao con una producción de 2027 t. Esta baja producción se debe al predominio de plantaciones viejas e improductivas, que por mucho tiempo no recibieron el manejo agronómico que el cultivo requiere, principalmente en lo referente al control fitosanitario, la poda y la fertilización. Por tanto, en estas áreas se presentan diversas plagas que afectan el follaje, flores y frutos que limitan el rendimiento del cultivo.

La pudrición negra del fruto es la enfermedad más importante en Cuba, que afecta el rendimiento de *Theobroma cacao* L. Las mayores afectaciones ocurren cuando la plaga afecta la bellota, provocando del 9 al 17 % de las pérdidas de las cosechas (Martínez y Pérez, 2015). Las plantaciones cubanas de cacao son severamente atacadas por la pudrición negra de la mazorca, en parte debido al pobre manejo de las mismas (Fernández, 2018).

Estudios realizados por Suárez *et al.*, (2013) al establecer las bases para la zonificación agroecológica en el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* Lin) por medio del criterio de expertos, describen que los resultados demostraron que los factores genéticos y socioeconómicos fueron valorados no relevantes. Estos resultados indicaron que los mismos no se vinculan directamente con la problemática de la ubicación del cultivo. Respecto a los genéticos, se ha explicado que las características genéticas del material están más relacionadas con la definición de las prácticas de cultivo y que el manejo del material genético es uno de los principales factores que influyen en la productividad del cacao y no en su establecimiento.

2.8 Generalidades de *Phytophthora* spp

El género *Phytophthora* (del griego Phytón: planta; phthora: destructor) fue creado por de Bary en 1876 con *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary como especie tipo.

Este investigador reconoció a dicho hongo como causante del “blight” tardío en la patata, en Europa (1840), previamente identificado como *Botrytis infestans* Montagne y luego como *Peronospora infestans* (Montagne) Caspary (Ho – Hing, 1990).

Desde entonces, el conocimiento sobre las especies de *Phytophthora* y las plagas que éstas causan en los árboles, ha estado creciendo rápidamente. Sólo en Europa, una variedad notable de 23 nuevos taxones se ha recuperado de los bosques y los ecosistemas semi-naturales, de los cuales 13 han sido oficialmente descritos (Raven *et al.*, 1999; Kamoun, 2002).

Las especies de *Phytophthora* producen varias plagas en muchos tipos distintos de plantas. La mayoría generan pudriciones de la raíz, ahogamiento de plántulas y pudriciones de tubérculos, cormos, tallos cortos y otros órganos. Otras causan pudriciones de yema o de frutos y algunos tizones foliares. Algunas especies son específicas al hospedero, pero otras tienen un amplio rango de éstos y pueden producir síntomas similares o distintos en muchos tipos de plantas hospederas. (Griffith y Shaw, 1998)

Estas especies se ven favorecidas por las altas temperaturas, alta humedad en suelo y atmosférica. En ocasiones el patógeno ataca el tallo por debajo de la superficie del suelo o bien puede atacar primero la raíz principal y producir síntomas semejantes a los que se deben por la sequía y el marchitamiento general de los órganos aéreos de la planta antes de que aparezcan chancros o cualquier tipo de lesión directa por arriba de la superficie del suelo.

En la mayoría de casos, el oomicete ataca a la planta a nivel de la superficie del suelo y produce el empapado de su corteza, la cual toma una apariencia de zona oscura sobre el tronco. Esta zona avanza en todas direcciones, y si la planta es pequeña y suculenta, el ennegrecimiento puede rodear a todo el tallo en poco tiempo, lo cual hace que las hojas de la parte inferior de la planta se desprendan y que, de hecho, toda la planta se marchite.

En algunos casos las estructuras reproductivas de tipo asexual de este oomicete son diseminadas a partes aéreas de la planta produciendo daño en hojas, yemas y frutos (Griffith y Shaw, 1998).

Este género comprende muchas especies patógenas. De gran importancia económica dentro de las cuales podemos destacar *Phytophthora palmivora*, este hongo ha sido reportado sobre plantas cultivadas y silvestres en casi todas las regiones tropicales del mundo, y en gran número en regiones subtropicales, aun se continúan los estudios sobre la incidencia de este organismo causal de plagas en el cacao, en la palma aceitera y otros, y las estrategias de manejo y control de esta enfermedad.

Estudios moleculares indican que el centro de origen de este microorganismo se encuentra en África, y sugieren que la especialización de esta especie por el cacao se originó al momento de la introducción de las primeras plantas al continente americano (Muñoz, 2019).

2.8.1 Clasificación taxonómica

Phytophthora tiene la siguiente clasificación taxonómica:

Reino: Chromista-

Phyllum: Oomycota-

Clase: Peronosporae-

Orden: Peronosporales-

Familia: Peronosporaceae-

Género: *Phytophthora*

Especie: *Phytophthora palmivora* (Butl) Butl

2.8.2 *Phytophthora palmivora* como plaga de importancia para el cacao

Aunque algunas especies de *Phytophthora* spp son infecciosas en el cacao, sólo unas pocas especies, se consideran realmente importantes por el daño que causan. La enfermedad mazorca negra del cacao es causada por cinco especies del género *Phytophthora* spp. *P. palmivora*, *Phytophthora megakarya*, *Phytophthora citrophthora* (Smith & Smith) Sarejanni y *Phytophthora capsici/ Phytophthora tropicalis* Aragaki & Uchida (Bailey y Meinhardt, 2016).

Phytophthora palmivora es mundialmente importante porque además del cacao infecta más de 200 plantas incluyendo *Solanum tuberosum* Lin. (papa), *Cocos nucifera* Lin. (coco), *Ananas comosus* (Lin.) Merr. (piña), *Hevea brasiliensis* (caucho),

Citrus spp (cítricos), *Carica papaya* Lin. (papaya) y *Elaeis guineensis* Jacq. (palma de aceite). Adicionalmente, es la especie más cosmopolita presente en todos los países productores de cacao y se encuentra entre los patógenos más destructivos del cultivo (Zentmyer *et al.*, 1981).

La descomposición causada por *Phytophthora palmivora* es la principal limitación en la producción de plántulas en todas las zonas cálidas de alta precipitación (Peter y Chandramohan, 2014; Ramírez, 2016), además de incidir directamente en la producción y la calidad de las almendras de cacao (ACIAR, 2014).

La figura 1 muestra el ciclo de vida de *Phytophthora palmivora* en el cultivo del cacao, el cual tiene una duración de 11 días a partir de que el fruto es infectado por las esporas del patógeno, que se encuentran en el suelo y llegan a los ellos a través de insectos y por el agua de salpicadura.



Figura 1. Ciclo de vida de *Phytophthora palmivora* en cacao.

2.9 Manejo de plagas en cacao

El éxito de las estrategias de manejo depende de la aplicación de métodos y modelos adecuados, que representen el gradiente de enfermedad en el espacio y/o la curva de progreso de la enfermedad en el tiempo, considerando la relación entre

patógenos, hospedante, variables ambientales y manejo del cultivo (Cárdenas *et al.*, 2017).

El Ministerio de la Agricultura de Cuba a través del Grupo Agroforestal (GAF) ha propuesto una estrategia fitosanitaria para el año 2019, que abarca las diferentes fases del cultivo, en la que regula los productos y dosis aplicar en cada caso. Para el cultivo del cacao se pueden aplicar fungicidas, en caso de ser necesario. Como productos químicos se propone el empleo del Mancozeb, Cuproflow SC 37,75 y Bayfidan duo, mientras que *Trichoderma* es el biofungicida sugerido, este último solo para aplicación foliar en viveros.

La lista oficial de plaguicidas autorizados del Registro Central de Plaguicidas de la República de Cuba, aprobado en 2016 contiene los usos autorizados de los formulados plaguicidas en la República de Cuba, en diferentes esferas de la economía y su emisión actualizada deroga la anterior. En ella se relacionan como fungicidas químicos para este cultivo el Maneb, el oxiclورو de cobre y el zineb. En las plantaciones en fomento - desarrollo y en producción, aun el uso de fungicidas biológicos es una alternativa poco generalizada.

El uso indiscriminado y recurrente de fungicidas sintéticos genera presencia de cepas resistentes, acumulación de residuos tóxicos de los productos agrícolas y contaminación ambiental (Moo *et al.*, 2014).

2.10 Control biológico

En la búsqueda de agentes de control biológico, una de las estrategias básicas debe ser la exploración inicial de los enemigos naturales nativos (Reyes-Figueroa *et al.*, 2016).

El uso masivo y continuado del control biológico desde la década de los ochenta del pasado siglo constituye uno de los principales componentes del manejo de plagas en Cuba; esto ha permitido que 871 591, 22 ha sean tratadas con productos biológicos en diferentes sistemas agrícolas del país (Almándoiz *et al.*, 2016).

La búsqueda de microorganismos antagonistas para el control biológico de patógenos en cultivos de importancia económica ha despertado especial interés

debido a sus potencialidades y a la gravedad de los impactos ecológicos causados por la constante y creciente aplicación de agroquímicos en los agroecosistemas.

Los hongos antagonistas del género *Trichoderma* tienen la capacidad de actuar contra una amplia variedad de patógenos del suelo (*Fusarium spp.*, *Rhizoctonia spp.*, *Pythium spp.*, *Phytophthora spp.* y *Sclerotinia sp.*) (Villamil *et al.*, 2015a).

La frecuencia de microorganismos antagonistas en el suelo puede estar determinada por diferentes factores como la incidencia del patógeno en el campo, el tipo de suelo y/o el genotipo de la planta sembrada (Noriega *et al.*, 2016).

Por su naturaleza, el control biológico no elimina, sino que disminuye las poblaciones del patógeno y como consecuencia, reduce la incidencia de la enfermedad, por lo tanto, debe emplearse en propuestas de manejo integrado con énfasis en el control cultural mejorado (Villamil *et al.*, 2015b).

2.11 El uso de hongos endófitos en la agricultura

Los endófitos se pueden definir a como microorganismos que pueden colonizar espacios intercelulares y vasculares en tejidos de plantas sin expresar patogenicidad o proporcionar algún beneficio. En esta definición, se pueden diferenciar los endófitos simbióticos y patógenos. Las plantas hospedan una gran variedad de microorganismos endófitos que pueden promover el crecimiento y la protección contra patógenos (Hakizimana *et al.*, 2011).

La penetración en la planta por parte de las bacterias puede ocurrir a través de los estomas, heridas, áreas de emergencia de raíces laterales, siendo que estas bacterias pueden producir enzimas hidrolíticas capaces de degradar la pared celular de los vegetales tales como celulasa y pectinasa, esta acción también la pueden hacer a través de la zona de elongación y diferenciación de las raíces. Probablemente, no existe una planta que esté libre de endófitas, y los pocos ejemplos de su ausencia podría ser debido a que muchos microorganismos no son cultivados o aislados fácilmente (Pérez *et al.*, 2014).

Entre los principales endófitos usados como agentes de control biológico, están algunas especies del género *Trichoderma*, consideradas antagonistas naturales de

fiopatógenos, ampliamente utilizados en la agricultura, que contribuyen al mejoramiento del crecimiento y desarrollo de las plantas (Guédez, *et al.*, 2009; Harman, 2006; Junaid, *et al.*, 2013; Toghueo *et al.*, 2016). En *T. cacao*, recientes estudios han mostrado que hongos endófitos pueden limitar el daño por *M. pernicioso*, *M. roreri* y *P. palmivora* (Bailey *et al.*, 2008; De Souza *et al.*, 2008; Mejía *et al.*, 2008).

Tirado-Gallego *et al.* (2016), plantean que, a pesar de los éxitos reportados sobre hongos endófitos para la supresión de plagas del cacao, se sabe poco acerca de la presencia o potencial de endófitos bacterianos. Algunos estudios han demostrado que los actinomicetos son habitantes comunes de la rizosfera del cacao y de la superficie de las mazorcas. Otros estudios, han demostrado que los endófitos bacterianos podrían introducirse en los granos de cacao, pero la presencia de endófitos bacterianos nativos en el cacao y su potencial para la supresión de la enfermedad es desconocida.

2.12 Importancia agrícola del género *Trichoderma* como agente de biocontrol

Las especies de *Trichoderma* predominan en ecosistemas terrestres (bosques o suelos agrícolas), tienen bajo requerimiento nutricional pero relativamente amplio rango de temperatura (25-30°C) para su crecimiento (Sandle, 2014). Además, poseen alta adaptabilidad a condiciones ecológicas y pueden crecer de manera saprofítica, interactúan con animales y plantas (Zeilinger *et al.*, 2016), y se desarrollan en diversos sustratos, lo cual facilita su producción masiva para uso en la agricultura. Es por ello que el estudio de la diversidad de especies de *Trichoderma* en diversos hábitats naturales, permite ampliar el conocimiento sobre su aporte biotecnológico, y su importancia ecológica y agrícola (Torres-De la Cruz *et al.*, 2015).

Diversas especies de este género están asociadas con la rizósfera de plantas o pueden relacionarse de manera endofítica, por lo que pueden promover el crecimiento y desarrollo de las plantas, mediante la producción de auxinas y giberelinas; también pueden producir ácidos orgánicos (glucónico, fumárico, y cítrico) que pueden disminuir el pH del suelo y propiciar la solubilización de fosfatos, magnesio, hierro y manganeso, los cuales son vitales para el metabolismo vegetal

(Torres-De la Cruz *et al.*, 2015; Sharma *et al.*, 2017). Además, este género fúngico es importante para las plantas, al contribuir en el control de hongos fitopatógenos, ya que poseen propiedades micoparasitarias y antibióticas, por lo que algunas especies han sido catalogadas como excelentes agentes de control biológico de hongos causantes de enfermedades en diferentes plantas (Argumedo-Delira *et al.*, 2009). Este hongo toma nutrientes de los hongos que parasita y de materiales orgánicos, ayudando a su descomposición, por lo cual las incorporaciones de materia orgánica y compostas favorecen su proliferación (Ramos *et al.*, 2008).

Las propiedades antagónicas de *Trichoderma* hacia hongos patógenos se basan en la activación de múltiples mecanismos que incluyen la competencia por nutrientes y espacio, el micoparasitismo, la antibiosis, la promoción del crecimiento vegetal, e inducción de respuestas de defensa vegetal. Durante el proceso de micoparasitismo, *Trichoderma* secreta enzimas que hidrolizan la pared celular de los hongos que parasita, siendo las más conocidas las proteasas, las quitinasas y las glucanasas (Marcello *et al.*, 2010; García-Espejo *et al.*, 2016).

El efecto de diversas especies de *Trichoderma* sobre el biocontrol de enfermedades se ha estudiado en cultivos de importancia agronómica como tomate (*Solanum lycopersicum*), arroz (*Oryza sativa*), maíz (*Zea mays*), trigo (*Triticum* sp.), entre otros (Diánez *et al.*, 2016). Al-Hazmi y Javeed (2016) estudiaron cuatro concentraciones de inóculo de *T. harzianum* y *T. viride* para el control de *Meloidogyne javanica* en tomate, encontrando que las concentraciones estudiadas suprimen la reproducción del nematodo e incrementan el crecimiento de la planta. Además, cabe destacar que no solo es importante el agente de biocontrol utilizado, sino también la forma de aplicación del mismo.

Por ejemplo, de Aguiar *et al.* (2014) estudiaron el antagonismo de *Trichoderma* spp. contra *Sclerotinia sclerotiorum* en cultivos de tomate híbrido Heinz 7155, destacando la aplicación del biofungicida mediante irrigación por goteo, favoreciendo el control de la enfermedad y el aumento en el rendimiento de la fruta. Charoenrak y Chamswarng (2016) estudiaron el uso de *T. asperellum* 01-52 y CB-Pin-01 en cultivo fresco y en forma de pellets, como agente de biocontrol del agente causal de la enfermedad de

la decoloración de semillas de arroz (*O. sativa*) en Tailandia, encontrando que ambas formulaciones incrementaron la altura de la planta, el número de tallos, el peso de las semillas, y el rendimiento total de arroz, en comparación con el testigo no tratado; además de disminuir la incidencia de la enfermedad en las plantas.

Trichoderma es un hongo metabólicamente versátil, capaz de utilizar un amplio rango de biomasa vegetal, incluyendo oligosacáridos como sucrosa, rafinosa y polisacáridos como celulosa, inulina, quitina, pectina, y almidón (Sandle, 2014); así como sustratos más complejos como suero de leche, hidrocarburos del petróleo e incluso plaguicidas, contribuyendo potencialmente a su degradación. También es capaz de utilizar y degradar residuos lignocelulósicos que están constituidos de celulosa (40-55%), hemicelulosa (25-50%), y lignina (10-40%), dependiendo si la fuente es madera dura, madera blanda, o rastrojos (la Grange *et al.*, 2010).

En el proceso de fermentación de residuos lignocelulósicos se logra obtener productos hidrolíticos como hexosas monoméricas (glucosa, manosa y galactosa), y pentosas (xilosa y arabinosa) (Dashbatan *et al.*, 2009). Los organismos capaces de degradar celulosa secretan un complejo de celulasas con diferentes especificidades y modos de acción. Este complejo incluye endoglucanasas (endo-1,4- p-glucanasas), celobiohidrolasas o exoglucanasas y p-glucosidasas (Castrillo *et al.*, 2015).

La lignina es degradada por la interacción de diversas enzimas extracelulares, principalmente fenoloxidasas (lacasas) y peroxidasas (manganeso-peroxidasa y lignina-peroxidasa) (Barreto *et al.*, 2011) produciendo compuestos fenólicos tales como ácido ferulico, ácido vanílico, entre otros, y alcoholes como guaiacol y catecol.

El xilano es el componente mayoritario de la hemicelulosa, la p-1,4-endoxilanasas y la p-xilosidasas son las enzimas responsables de la hidrólisis de la cadena principal y representan los principales componentes del sistema xilanolítico (Dashtban *et al.*, 2009). La conversión biológica de biomasa lignocelulósica a azúcares simples está constituida de dos pasos básicos, que constan de un pretratamiento físico o químico de los residuos, y de la hidrólisis enzimática de los mismos

MATERIALES Y MÉTODOS

III.- MATERIALES Y MÉTODOS:

3.1 Ubicación del área experimental

El trabajo se realizó en la Estación Experimental Agroforestal de Baracoa, perteneciente al Instituto de Investigaciones agroforestales (INAF), y en el Centro de Reproducción de Entomófagos y Entomopatógenos (CREE) de la Empresa Agroforestal y Coco de Baracoa, Provincia Guantánamo, pertenecientes ambas entidades al Grupo Agroforestal (GAF) del Ministerio de la Agricultura de Cuba. Los experimentos de campo se ejecutaron en la Cooperativa de Producción Agropecuaria Mártires de Barbados en la localidad del Cayayal, Consejo Popular Sabanilla en una plantación de cacao (mezcla clonal) plantada a 3 x 3 m con sombra predominante de *Gliricidia Sepium*, sobre un suelo Fluvisol (Hernández, *et al.*, 2019).

3.1.1 Potencialidad de *Phytophthora palmivora* como plaga en la producción de cacao.

Para complementar los conocimientos que son necesarios para alcanzar el manejo adecuado de *P. palmivora* en la producción de cacao se aplicó una encuesta para conocer la percepción que tienen los técnicos sobre la problemática de la pudrición negra en la producción de cacao. Se evaluó la incidencia de *P. palmivora* en dos clones de cacao en condiciones de campo, aspectos poco profundizados con anterioridad en el cultivo y se estudió la influencia de las labores agrotécnicas en los índices de infestación por *P. palmivora*, lo cual aportará elementos sobre la nocividad de este fitopatógeno en clones comerciales de *Theobroma cacao* Lin.

3.1.1.1 Percepción de los técnicos sobre el control de *P. palmivora* en la producción de cacao.

Se aplicó una encuesta a 10 técnicos de igual número de entidades productivas, ubicadas en el municipio Baracoa, provincia Guantánamo, para conocer la situación actual del control de *Phytophthora palmivora* en plantaciones de cacao en producción, entre ellas cinco Unidades Básicas de Producción Cooperativa (UBPC Arquímedes Borges, 68 aniversario, Gabriel Lamouth, Ernesto Che Guevara y Camilo Cienfuegos), una Cooperativa de Producción Agropecuaria (CPA Mártires de Barbados) pertenecientes a la Empresa Agroforestal y Coco Baracoa y a la

Asociación Nacional de Agricultores Pequeños (ANAP) del Municipio Baracoa y la Estación Experimental Agroforestal Baracoa

El nivel de esta investigación fue de tipo descriptivo, se describió el fenómeno objeto de estudio para el mejor conocimiento de la situación y caracterizar la problemática para poder formular soluciones apropiadas.

Al respecto Lanz y Granado, (2009) refieren que el estudio descriptivo identifica características del universo de investigación, señala formas de conducta y actitudes del universo investigado, establece comportamientos concretos, descubre y comprueba la asociación entre variables de investigación. Los estudios descriptivos acuden a técnicas específicas en la recolección de información, como la observación, las entrevistas y los cuestionarios.

La encuesta se dividió en 10 acápite. Los cuatro primeros cubrieron aspectos generales relacionados con la ubicación de las entidades, subordinación, características del área, y los datos personales y laborales del entrevistado. Los cinco acápite siguientes estuvieron encaminados a conocer aspectos relacionados con los principales cultivos sembrados, sus plagas fundamentales y las medidas para su control, las particularidades del cultivo del cacao, la problemática la pudrición negra de la mazorca y el conocimiento sobre los fitopatógenos en este cultivo. El último acápite trató sobre las necesidades de capacitación sobre esta plaga. La encuesta completa se muestra en el Anexo 1. Los datos recogidos en las encuestas se llevaron a hojas de cálculos de Microsoft Excel versión 2016, donde se procesaron los resultados.

En las preguntas diseñadas para determinar la actitud de los productores hacia los temas evaluados, se utilizó el método de escalamiento de Likert y de diferencial semántico (Mc Graw, 2007). Se asignaron tres categorías: 0 (valor mínimo), 1 (valor intermedio) y 2 (valor máximo), al considerar la diversidad de capacidades de discriminación entre los individuos entrevistados. Para el cálculo de los índices de aceptación se aplicó la fórmula:

$$IA = PT/NT$$

Donde:

IA = índice de aceptación.

PT = puntuación total en la escala.

NT = número de afirmaciones de los individuos.

Para las restantes preguntas que conformaron el cuestionario, se utilizó la técnica de preguntas cerradas (Rodríguez *et al.*, 2008). En estas, se determinó el porcentaje que representa cada alternativa de respuesta, del total de individuos entrevistados.

Para conocer si existía diferencia significativa entre las plagas identificadas se aplicó una comparación múltiple de proporciones a través del método de Wald Test, utilizando el Software CompaProWin 2.0.1 (Castillo *et al.*, 2014).

3.2 Evaluar productos fitosanitarios en condiciones de laboratorio y campo para el control de *Phytophthora palmivora* en los clones UF – 650 y UF – 677.

3.2.1 Evaluación de productos fitosanitarios en condiciones de laboratorio para el control de *Phytophthora palmivora*.

3.2.1.1 Activación y siembra de antagonistas

La investigación se realizó en el laboratorio de microbiología de la Estación Experimental Agroforestal de Baracoa, perteneciente al Instituto de Investigaciones Agroforestales (INAF). Como antagonistas se utilizaron aislamientos de *Trichoderma harzianum* Rifai, y *Trichoderma viride* Pers., donados por el Centro de Reproducción de Entomófagos y Entomopatógenos (CREE) perteneciente a la Empresa Agroforestal y Coco de Baracoa.

Trichoderma spp se aisló de los compost elaborados a partir de residuos de cosecha en la UBPC José Maceo Grajales, del Consejo Popular Jamal, el mayor polo productivo del municipio Baracoa.

Posteriormente se activaron en placas Petri con medio de cultivo PDA (Papa-Dextrosa-Agar). La base de este medio es altamente nutritiva y permite la esporulación y la producción de pigmentos y es recomendado para realizar el recuento colonial. Para la preparación se añadió en un matraz 39 g de PDA a 1000 mL de agua. Se agregó ácido láctico para inhibir el crecimiento de bacterias y otros hongos (Moreno, 1988). Se esterilizó por 30 min en autoclave a 120 °C, se vertió el medio en placas Petri en una cámara de flujo laminar y el medio de cultivo se dejó solidificar durante 5 min. Se sembraron las diferentes especies ensayadas de *Trichoderma* en la cámara de flujo laminar, para lo que se tomó una porción de

micelio con una aguja de disección estéril, y se realizaron cinco repeticiones. Posteriormente se incubaron a 25 °C por 120 horas, para estimular su crecimiento.

3.2.1.2 Activación del patógeno

El oomiceto *P. palmivora* se aisló a partir de frutos con síntomas de la afectación ocasionada por el mismo, del banco de germoplasma de la Estación Experimental Agroforestal Baracoa. Para la activación del patógeno *P. palmivora* se preparó un medio de cultivo PDA + ácido láctico para inhibir el crecimiento de otros agentes patógenos. Posteriormente se esterilizó el medio de cultivo en una autoclave a 120 °C por 30 m. Luego se llenaron las placas Petri y se esperó 5 minutos para que solidificara el medio. Se sembró con una aguja de disección estéril una porción de micelio de *P. palmivora* de 3 mm de diámetro, se hicieron cinco repeticiones y se incubó a 28 °C durante 120 h.

3.2.1.3 Crecimiento radial de antagonistas

El crecimiento radial e individual del micelio de las tres cepas de *Trichoderma* fue en medio de cultivo PDA + ácido láctico y se evaluó de acuerdo al protocolo descrito por Dimbi, *et al.* (2004). Un fragmento de 5 mm de diámetro se recolectó del borde de colonias de *Trichoderma* de 4 d de edad, ya que en esta zona de avance es donde se concentran la mayor cantidad de enzimas, por tanto el crecimiento micelial y la esporulación del hongo es mayor. Luego esta porción se colocó en el centro de una placa Petri. El crecimiento se midió con una regla milimetrada (Figura 2).

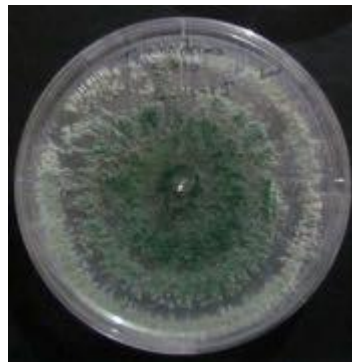


Figura 2. Crecimiento radial de *Trichoderma spp.*

El crecimiento radial del micelio de *P. palmivora* se desarrolló en medio de cultivo sólido PDA + ácido láctico (Figura 3) donde creció como aislamiento puro durante 10 días. El crecimiento radial se midió con una regla milimetrada.

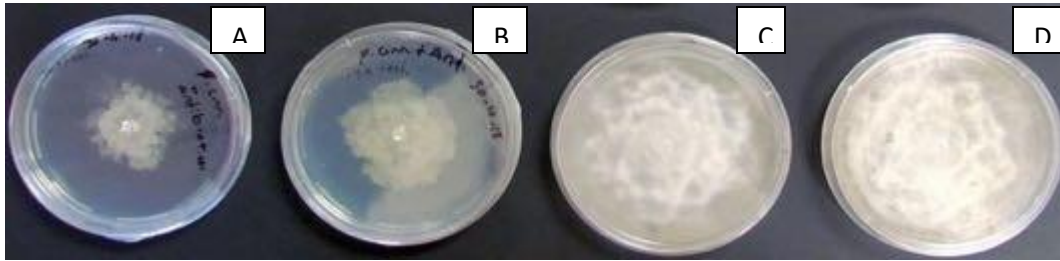


Figura 3. Crecimiento radial de *P. palmivora* a los 2 días (A); 4 días (B); 7 días (C) y 10 días (D), en medio de cultivo PDA.

3.2.1.4 Evaluación del biocontrol antagonista de *Trichoderma harzianum*, *viride* y *Trichoderma sp.*, contra *Phytophthora palmivora*.

Para determinar la capacidad inhibidora y colonización de los diferentes aislamientos de *Trichoderma* sobre el patógeno *P. palmivora* se realizaron pruebas de antagonismo *in vitro* en el que se evaluó la capacidad antagónica mediante la técnica de cultivos duales. Para esta técnica se colocó una porción de 3 mm en un extremo de la placa Petri del antagonista y en el otro extremo al patógeno. Se incubó a 25 °C, y la medición se realizó desde la posición en la que estaba el patógeno y el antagonista, hacia el centro, para medir su crecimiento radial individual hasta el enfrentamiento. Se tomaron lecturas del incremento radial micelial cada ocho horas para determinar el crecimiento hasta el primer contacto entre las hifas de ambos hongos (patógenos y antagonistas), para observar si *Trichoderma sp.* tiene capacidad antagónica para invadir a *P. palmivora*. Para evaluar cómo influye cada uno de los tres aislamientos de *Trichoderma* sobre el crecimiento del aislamiento de *P. palmivora* se midió su crecimiento radial en una placa de Petri con PDA. Las mediciones del crecimiento radial se realizaron durante 112 h, con tres repeticiones por tratamiento.

3.2.1.5 Diseño experimental y análisis estadístico

El ensayo de antagonismo *in vitro* se realizó por triplicado para cada uno de los tratamientos con un diseño experimental completamente al azar. Se realizó el análisis de varianza y comparación de medias con el paquete estadístico InfoStat (versión libre), desarrollado por Di Rienzo *et al.*, (2012) y se compararon a través de la prueba de rangos múltiples de Tukey al 5 %.

3.2.2 Evaluación de productos fitosanitarios en campo para el control de *Phytophthora palmivora* en los clones UF – 650 y UF – 677.

El trabajo se desarrolló desde enero 2015 a junio 2018 en la finca El Cayayal (Figura 4), perteneciente a la CPA Mártires de Barbados, con el objetivo de emplear como control biológico de *Phytophthora palmivora* cepas del hongo antagonista *Trichoderma* en plantaciones de cacao para lograr producciones orgánicas y sostenibles. La plantación es una mezcla clonal de UF - 650 y UF - 677, propagada por injerto, con una edad de 25 años, distancia de plantación es de 3m x 3m y sombra predominante de *Gliricidia sepium* sobre un suelo aluvial (Hernández *et al.*, 2019).



Figura 4. Ubicación del área experimental

Para la preparación y aplicación del bioproducto, se depositó un fragmento de agar colonizado (0,5 cm diámetro) en 10 ml de agua destilada estéril con el dispersante de esporas Tween 80 al 0,1 % y se homogenizó en un agitador vibratorio durante 30 segundos; se realizaron diluciones seriadas decimales hasta obtener la dilución apropiada (10^{-7}) y se contabilizó en número de conidios en cámara de Newbauer.

Se utilizaron 4 tratamientos:

T1: Cepa de *Trichoderma harzianum* A-34 fase sólida (8,125 g en un litro de agua)

T2: Cepa de *Trichoderma viride* TS-3 fase sólida (8,125 g en un litro de agua)

T3: Oxicloruro de cobre (Cuproflow SC 37.75): 75 cc en 16 litros de agua más 125 ml de Haftol como adherente)

T4. El control sin aplicación de productos biológicos ni químicos.

Los productos se asperjaron principalmente en el tronco y ramas primarias con un asperjador dorsal Matabit de 16 litros de capacidad. La dosis utilizada fue de 8 Kg/ha⁻¹.

Se empleó un diseño de bloques al azar con 4 réplicas y 6 plantas por tratamientos, para un total de 96 plantas en el experimento, para calcular las pérdidas de cosecha según el tratamiento ensayado. Se utilizó la fórmula propuesta por el Servicio de Fitopatología de Centro Internacional de Investigación de Desarrollo Agrícola (CIRAD) de Montpellier-Francia, descrita por Matos *et al.*, 1998)

$$\% \text{ Pérdidas} = \frac{\sum P_p}{\sum (P_p + O.P. + M.S.)}$$

Dónde:

P._p = todos los frutos afectados por *Phytophthora palmivora*

O.P.= todos los frutos afectados por otras pudriciones

M: S.= todos los frutos maduros sanos.

3.2.2.1 Diseño experimental y análisis estadístico.

Los datos fueron analizados mediante un Análisis de Varianza con el empleo del paquete estadístico InfoStat versión libre, desarrollado por Di Rienzo *et al.*, (2012) y se compararon a través de la prueba de rangos múltiples de Duncan al 5 %.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

4.1. Potencialidad de *Phytophthora palmivora* como plaga en la producción de cacao.

4.1.1. Percepción de los técnicos sobre el control de *P. palmivora* en la producción de cacao.

A través de la encuesta se pudo conocer la situación fitosanitaria de 10 entidades productivas que abarcaron una superficie de 1596,01 ha, lo que representa el 82.7 % del área destinada a este cultivo, con la introducción de los clones UF – 650 y UF - 677 en el Municipio Baracoa.

La tabla 1 muestra que el personal encuestado de las entidades se encuentra entre los 46 – 55 años de edad (40 %) y con más de 55 años el (40 %), entre 31 – 45 el (10 %) y con menos de 30 años el (10 %), es de destacar la prevalencia de persona con experiencia lo cual es sumamente importante, ya que se garantiza un personal capacitado para llevar a cabo la producción cacaotera, al tener un gran conocimiento de este cultivo, además en el personal de mayor experiencia también se encuentra el mayor número de técnicos.

Tabla 1. Distribución de los técnicos encuestados del municipio Baracoa (*Theobroma cacao* L.) de acuerdo a la edad y el sexo.

Grupos de edades	Cantidad de técnicos	Sexo		% por grupos de edades	% por sexo	
		M	F		M	F
16 - 30 años	1	-	1	10	-	10
31- 45 años	1	1	-	10	10	-
46 - 55 años	4	3	1	40	30	10
+ de 55 años	4	4	-	40	40	-

Estos resultados son similares a los obtenidos por Lanz y Granado, (2009), los cuales, al realizar un diagnóstico agro-socioeconómico de cacao en Venezuela, encontraron que más del 50 % de los encuestados poseían una edad superior a los 50 años. Estos autores refieren que este aspecto social afecta directamente la producción, debido a que este cultivo requiere mucha mano de obra y la mayoría de

las prácticas realizadas al cultivo son manuales, por lo cual una avanzada edad limita el desarrollo de las actividades que se deben realizar.

En relación al sexo, el 80 % de ellos son hombres, mientras que el 20 % son mujeres (Tabla 1). Al respecto Lanz y Granado, (2009) observaron que el tiempo que permanecen las féminas en la finca es poco, porque además de esta función, realizan labores de atención al hogar y cuidado de los hijos. Otras participaron activamente en la labor de cosecha y postcosecha. Por lo anterior se infiere que tanto hombres como mujeres, tienen una importancia fundamental en el desarrollo de este cultivo.

En el presente estudio se evidenció en cuanto a la experiencia en el cultivo que el 80 % acumula más de 10 años en la actividad, con preparación para cumplir con sus funciones.

Por otra parte, el mayor porcentaje de los encuestados alcanzan el nivel de técnico medio (50 %), seguido por los universitarios (30 %), el 20 % restante correspondió a los productores que solo alcanzan el 12 grado (Figura 5). Esto es un aspecto importante si se tiene en cuenta que la mayor cantidad del personal destinado a la atención del cultivo tiene formación afín con el área de conocimiento, lo que permite ejercer un trabajo más eficiente destinado a las labores del cultivo.

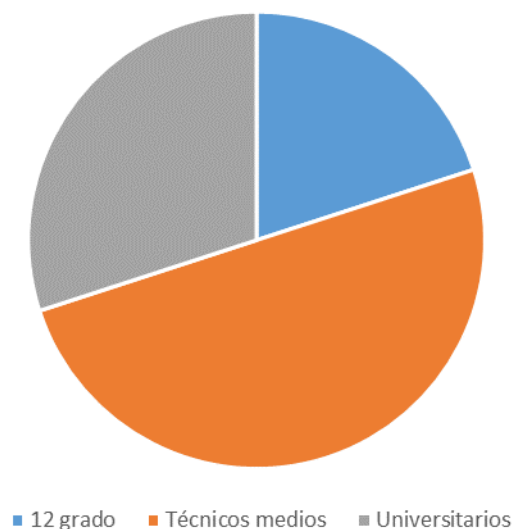


Figura 5. Clasificación de los técnicos encuestados en el Municipio Baracoa de acuerdo al nivel escolar.

Este aspecto es importante conocerlo, debido a que sirve para planificar adecuadamente actividades de asistencia técnica, que permitan capacitarlos en áreas referidas al manejo del cultivo y labores postcosecha, tomando en cuenta la heterogeneidad en el nivel de estudios que poseen (Lanz y Granado, 2009).

En el caso particular del cultivo del cacao, los productores refieren que los clones más empleados son UF – 650 y UF – 677. Estos son recomendados por tener un buen comportamiento agronómico y productivo, ya que presentan frutos grandes y numerosos, semillas grandes y abundante mucílago, precocidad en su producción y son plantas de porte bajo, si se manejan adecuadamente con la poda y el deshije. Sin embargo, en las condiciones de Baracoa presentan susceptibilidad ante *Phytophthora palmivora*.

Los encuestados mencionan de forma unánime como principal problema fitosanitario a *Phytophthora palmivora*, la cual supera con diferencias significativas a las demás afectaciones provocadas por otras plagas. Los roedores (*Rattus spp*), *Diplodea theobromae*, las aves y las hormigas, también presentan un gran nivel de incidencia según el criterio de los encuestados.

Las hormigas no solo afectan al cultivo, como la bibijagua (*Atta insularis* GUÉRIN-MÉNEVILLE), sino que algunas de ellas, como es la hormiga brava (*Pseudomyrmex pallidus* (F. Smith) y la hormiga de fuego (*Wasmannia auropunctata* Roger) resultan ser un problema para los productores al realizar las labores agrotécnicas.

Por otra parte se encuentran especies que ocasionan menores afectaciones como el enrollador de la hoja (*Bocchoropsis pharaxalis* Druce), pulgones (*Toxoptera aurantii* BOYER DE FONSCOLOMBE, *Ceratocystis*, *Hemeroblema rangus* Poey, *Trips* y Guaguas. No obstante, estos técnicos hacen alusión a varias afectaciones más en el cultivo, ocasionadas por otros agentes que afectan diferentes órganos de la planta y que en su conjunto afectan la producción de este rubro económico (Figura 6).

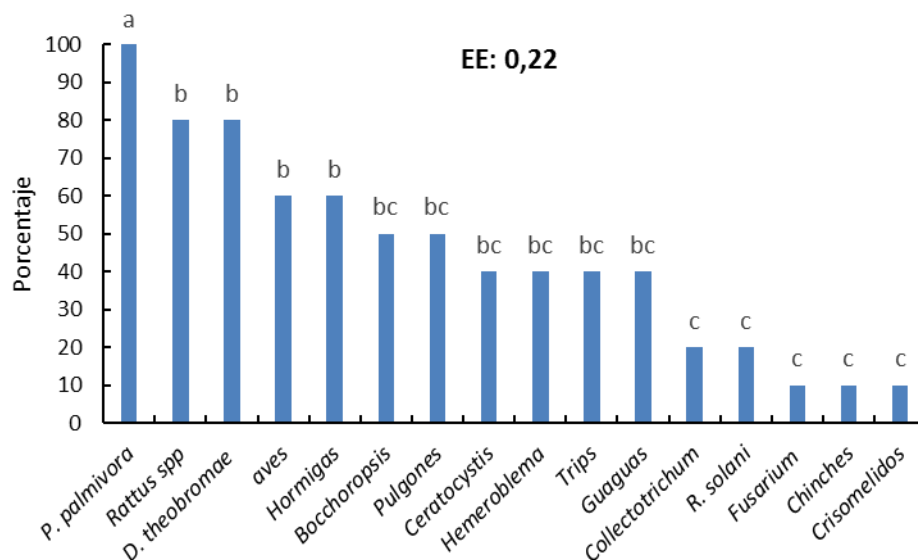


Figura 6. Criterios de los técnicos sobre las principales plagas identificadas que afectan el cultivo del cacao en Baracoa.

Estos resultados corroboran lo planteado por Sims *et al.*, (2018) quienes describen que las enfermedades causadas por el género *Phytophthora* son unas de las mayores amenazas para la biodiversidad del mundo. La “pudrición parda” o “mazorca negra” es una enfermedad que limita la productividad del cacao y es causada por diversas especies del género *Phytophthora*, tales como *P. palmivora*, *P. megakarya*, *P. capsici* y *P. citrophthora*.

Bailey y Meinhardt, (2016), expresan que la más extendida y la que más daño causa es *P. palmivora*.

En Cuba la enfermedad de mayor importancia económica en el cultivo del cacao es la pudrición negra de la mazorca causada por *Phytophthora palmivora* (Butl) Butl. (Fernández, 2018), responsable del 9 al 17 % de las pérdidas de cosecha en las plantaciones (Matos y Clapé, 2012; Matos *et al.*, 2016).

Lambertt, Menéndez y Pierra, (2015) al realizar un estudio de las afectaciones del enrollador de la hoja (*B. pharapsalis*) en clones e híbridos de *Theobroma cacao* Lin. en Baracoa refieren esta plaga incidió negativamente en el cultivo.

En relación con las medidas utilizadas para enfrentar esta problemática fitosanitaria, el manejo agrotécnico es el más practicado. Entre las prácticas más usadas se encuentran la poda, el deshije, la regulación de sombra y el autosombreo, el drenaje,

la limpia, la fertilización y la recolección fitosanitaria. En un segundo nivel se encuentra el control biológico, concentrado en alternativas, como la utilización de *Trichoderma* spp.

Al respecto Ramírez, (2016) al estudiar en una plantación comercial de cacao las pérdidas económicas asociadas a la pudrición de la mazorca observó que la poda de ramas y la remoción de fuente de inóculo (eliminación de mazorcas en estado avanzado de la enfermedad) presentaron signo negativo, indicando que su realización, como táctica dentro de una estrategia de control cultural en el cultivo, disminuye las pérdidas por esta enfermedad.

Resultados similares a estos fueron obtenidos por Lanz y Granado, (2009) quienes refieren que el 95% de los productores encuestados en el estado de Sucre, Venezuela realizaron todas las podas al cacao; de ellos, el 100% realizaron la poda de formación, un 78% realizó poda de mantenimiento, que consistió en quitar las ramas secas, mal formadas y enfermas. El 100% de ellos realizaron el deschuponado debido a que la planta de cacao tiene la tendencia fisiológica de producir chupones los cuales le restan vigor, por cuanto éstos deben ser eliminados periódicamente.

Para el control de *Phytophthora palmivora*, las principales medidas expresadas por los técnicos son el control agrotécnico o cultural, manejo integrado y el manejo agroecológico, con el mayor índice de aceptación, alcanzando el mayor con dos en la escala de Likert, seguidos por el control biológico en particular la cepa A-34 de *Trichoderma*, control físico y el control etológico con valores que superan a 1,5, lo cual es considerado como bueno y en menor uso está el control químico (Figura 7).

En tal sentido Meinhardt *et al.*, (2008) refieren que es necesario incorporar prácticas de manejo contra plagas y enfermedades del cacao que posibiliten la disminución de aplicación de productos químicos protectores y fungicidas sistémicos, debido a sus altos costos y los riesgos asociados con la contaminación de las almendras y daños medioambientales.

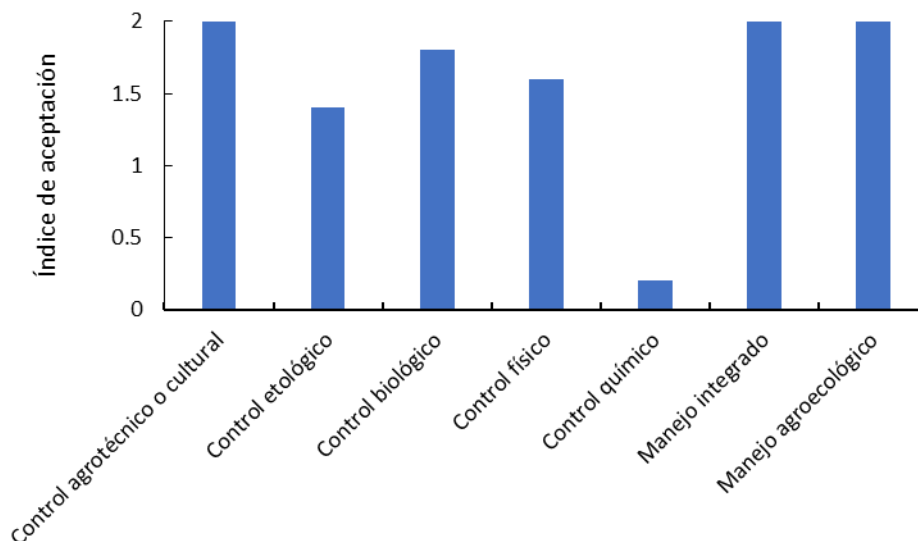


Figura 7. Criterios de los técnicos sobre los principales métodos de control de *Phytophthora palmivora* en cacao en Baracoa.

Infante, (2019) describe que el 100 % de los productores de cacao en la zona de Mata, Ecuador, conocen lo indispensable que es el manejo integrado de plagas y lo aplican, sin embargo, el 85 % de los productores aplica control químico, en tanto que el 10 % efectúa control mecánico y el 5 % realiza el control biológico.

Anzules, *et al.*, (2019), al realizar el control cultural, biológico y químico de *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora spp* en *Theobroma cacao* 'CCN- 51 en Ecuador, expresan que las buenas prácticas agronómicas y de fertilización, sumadas al control químico y biológico, pueden aumentar los rendimientos y los ingresos económicos de los pequeños agricultores.

La figura 8 muestra que el personal encuestado en este estudio manifiesta que dentro de los medios biológicos más utilizados para el control de las plagas en el cultivo del cacao, en el municipio Baracoa se encuentran: *Bacillus thuringiensis*, *Beauveria bassiana* y *Trichoderma spp*, siendo este último el que mayor índice de aceptación alcanza con 1,8 de un máximo de dos en la escala de Likert.

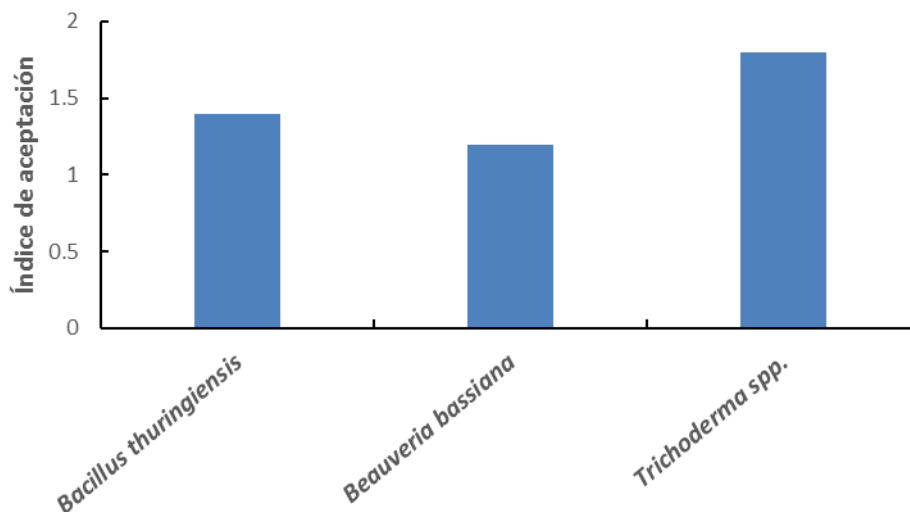


Figura 8. Medios biológicos usados para el control de plagas del cacao en el Municipio Baracoa.

Por ser *Phytophthora palmivora* el principal problema en la producción de cacao, el 90% de los entrevistados declaró conocerla, no obstante, fue significativo, que solamente el 60 % reconoció estar capacitado para su detección temprana, de ellos el 40 % realizan muestreos sistemáticos para su detección, aspecto que es vital para lograr un enfrentamiento exitoso, ya sea con un producto químico o biológico. Esto puede deberse a que solamente el 50 % de los entrevistados conoce la metodología de señalización de la plaga.

La figura 9 refleja que el mayor índice de aceptación, alcanzando dos en la escala de Likert, lo obtuvo la capacitación recibida por otras instituciones, como la Estación Experimental Agroforestal de Baracoa, cuya misión fundamental es proveer la base científico-técnica para el desarrollo sostenible y competitivo de las cadenas productivas de café, cacao, coco y forestales, haciendo énfasis en la conservación del medio ambiente.

Acorde con esta situación, todos los encuestados manifestaron su interés en recibir capacitación para profundizar en el conocimiento de la plaga y en las alternativas para su manejo.

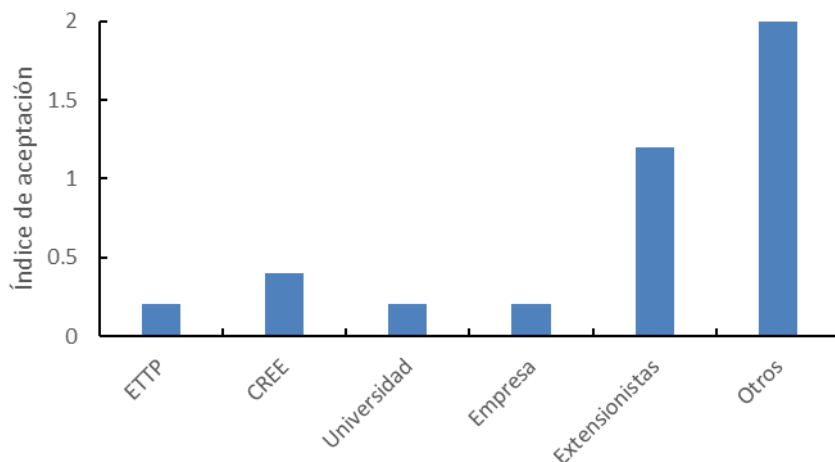


Figura 9. Instituciones que impartieron capacitación a los técnicos encuestados.

La información recogida permitió verificar que los productores reconocen que *P. palmivora*, es el principal problema fitosanitario del cacao en el país, así como direccionar un plan de acción conducente al logro de una mejor preparación del personal que labora en este cultivo, con vista a incrementar los rendimientos en el país.

Estos resultados difieren de los obtenidos por Infante, (2019) el cual describe que el 95 % de los productores de cacao no recibieron capacitación sobre el manejo integrado de plagas en cacao, mientras que el 5 % si la recibió. De ellos el 85 % informó que la falta de manejo integrado de plagas del cacao afectó sus rendimientos, mientras que el 15 % determinó que se debe a otros factores.

En estudios realizados por Nariño *et al.*, (2014) se describe que la aplicación consciente de las buenas prácticas agrícolas, derivadas de un programa de capacitación con enfoque medioambiental, económico y social, incluyendo el género, propició mejoras en la gestión tecnológica de los actores de la cadena productiva del cacao en ocho unidades de producción agropecuarias del municipio Baracoa, provincia Guantánamo, Cuba, las que experimentaron un incremento general de 209,82 t de cacao seco a partir de 2012, que representa un 89 % de crecimiento como resultado de las mejoras que se generaron en las atenciones agrotécnicas al cultivo de forma general.

Márquez y Aguirre, (2015) describen que al concluir un proyecto de capacitación de cacao en cuatro provincias de la Región Oriental de Cuba se garantizó la capacitación y el material didáctico de consulta necesario para que productores, beneficiadores, decisores y extensionistas, incluidas mujeres lograran un mayor desempeño en su trabajo, mejorando la calidad del mismo. Estos autores refieren además que los participantes desarrollaron un trabajo encaminado a divulgar los conocimientos a través de conferencias, talleres y demostraciones prácticas a grupos de productores y personal que labora en el cultivo.

Estos resultados son similares a los obtenidos por Rivas *et al.*, (2012) quienes al encuestar a productores de Tabaco observaron que el conocimiento que poseían para desarrollar el proceso productivo del cultivo, era aún insuficiente. De los temas evaluados, el relacionado con el de los enemigos naturales de las principales plagas que afectan al cultivo, obtuvo las mayores necesidades de capacitación.

4.2 Evaluar productos fitosanitarios en condiciones de laboratorio y campo para el control de *Phytophthora palmivora* en los clones UF – 650 y UF – 677.

4.2.1 Evaluación de productos fitosanitarios en condiciones de laboratorio para el control de *Phytophthora palmivora*.

El género *Trichoderma* presentó un crecimiento rápido y por resultante permitió cubrir en totalidad la superficie de la caja Petri con PDA a los 5 d, así mismo se sugiere que el tipo de especie influyó en el crecimiento y la velocidad. En la evaluación realizada se encontró que la cepa de *Trichoderma viride* (TS-3) presentó un crecimiento radial de mayor velocidad para cubrir en un área de 0,43 mm.

Por otro lado, las cepas de *Trichoderma sp.* y *Trichoderma harzianum* (A-34) presentaron similar comportamiento de crecimiento radial de 0,363 y 0,322 mm (Tabla 2; Figura 10). Por último, el comportamiento del crecimiento radial de *P. palmivora* presentó el valor más bajo ya que cubrió menor superficie de crecimiento micelial, resultado que se atribuye al medio de cultivo PDA, que no aportó los nutrientes necesarios para su crecimiento *in vitro*.

(Erwin, 1996), menciona que el medio de cultivo apropiado para el desarrollo de oomicetes es en un medio ácido, ya que el intervalo permisible de pH para el cultivo *in vitro* de los oomicetes oscila entre 3,5 y 10, con un crecimiento óptimo específico entre 4,5 a 5,5 para la mayoría de las especies.

Tabla 2. Crecimiento radial *in vitro* de *Trichoderma* y *P. palmivora*

Antagonistas	Crecimiento radial
<i>Trichoderma viride</i>	0,438 a
<i>Trichoderma sp</i>	0,363 b
<i>Trichoderma harzianum</i>	0,322 b
<i>P. palmivora</i>	0,119 c

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas para Tukey ($p \leq 0,05$).

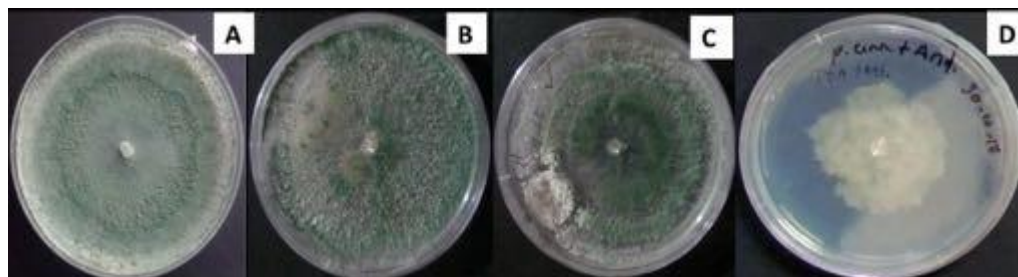


Figura 10. Crecimiento radial de las tres cepas de *Trichoderma*. A) *Trichoderma viride* (cepa TS 3) B) *Trichoderma sp.* C) *Trichoderma harzianum* (cepa A-34) y D) *P. palmivora*.

Según López-Ferrer *et al.*, (2017) al estudiar el papel antagónico de *Trichoderma* en un sistema agroforestal de cacao en México, describen que actualmente este género es uno de los agentes de mayor uso en programas de control biológico como antagónico y regulador de fitopatógenos en los sistemas agroforestales-cacaotal. Uno de los mecanismos antagónicos que utiliza *Trichoderma spp.*, él que se reportan en las investigaciones es el micoparasitismo, en este mecanismo generalmente se ven implicadas enzimas extracelulares como quitinasas, celulasas, β -1-3-glucanasas y proteasas que lisan o digieren las paredes de los hongos.

Reyes - Figueroa *et al.*, (2016) al desarrollar un estudio de especies de *Trichoderma* del agroecosistema cacao del estado de Tabasco, México, con potencial de

biocontrol sobre *Moniliophthora roreri* obtuvieron cincuenta aislamientos de *Trichoderma*, agrupados en nueve especies. Estos aislamientos se obtuvieron de la rizosfera de *T. cacao* como parte de un estudio de diversidad de este antagonista, los cuales fueron confirmados a especie mediante morfología y secuencias ITS.

Resultados similares fueron obtenidos en Ecuador por Terrero *et al.*, (2018) al estudiar la compatibilidad *in vitro* de *Trichoderma spp.* con fungicidas de uso común en cacao quienes refieren que el crecimiento micelial de las cuatro especies empleadas de *Trichoderma* fue superior en medio PDA mezclado con Azoxistrobina. La especie con mayor crecimiento micelial fue *T. ovalisporum* Samuels & Schroers. *T. harzianum* presentó crecimiento por encima del 55 % en medio con Azoxistrobina. El menor crecimiento correspondió a *Trichoderma stromaticum* Samuels & Pardo-Schulth.

4.2.1.1 Evaluación del antagonista o capacidad de biocontrol

En la presente investigación la capacidad antagónica de *T. viride* contra *P. palmivora* presentó resultados significativos ($p \leq 0,05$). En el crecimiento dual, el micelio de *Trichoderma viride* fue de 0,493 mm en comparación con *P. palmivora* (0,117 mm) (Tabla 3). Es válido mencionar que 8 h después de la siembra es la mejor hora de crecimiento *in vitro* del antagonista (0,433 mm) en comparación con *P. palmivora* que alcanzó 0.1 mm de crecimiento del micelio. El contacto de ambos micelios ocurrió a las 64 h.

En la capacidad antagónica entre *Trichoderma sp.* y *P. palmivora* se obtuvo un crecimiento micelial de 0,412 mm por parte de la cepa de *Trichoderma sp.* un crecimiento altamente significativo ($p \leq 0,05$), en comparación con *P. palmivora* que tuvo un crecimiento micelial de 0,08 mm. Se debe mencionar que se obtuvo un incremento del micelio significativo entre las 8 y 16 h con un crecimiento radial de 0,283 y 0,30 mm y un contacto entre micelios del antagonista con el patógeno a las 104 h.

Estos resultados son similares a los de Samaniego *et al.*, (2018) quienes al realizar un aislamiento, identificación y evaluación de cepas autóctonas de *Trichoderma ssp.* antagonistas de patógenos del suelo refieren que los aislados de *Trichoderma* presentaron las mejores respuestas, con los mayores crecimientos lineales miceliales

promedio y un comportamiento similar en cuanto a su crecimiento y desarrollo en medio de cultivo PDA. Sus mayores valores de crecimiento lineal micelial en PDA, reafirman la facilidad de crecimiento y desarrollo de *Trichoderma* en medios de cultivos apropiados.

Tabla 3. Antagonismo de *Trichoderma spp* contra *P. palmivora* causante de la pudrición negra del fruto del cacao.

	<i>Trichoderma viride</i>	<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Trichoderma spp</i>
Antagonistas	0,49333 a	0,41228 a	0,37111 a
<i>P. palmivora</i>	0,11778 b	0,08947 b	0,11111 b

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas para Tukey ($p \leq 0,05$).

Carrera, (2016) observó que los mejores resultados en cuanto al efecto *in vitro* e *in vivo* de los tratamientos con *Trichoderma spp.* sobre *M. roleri* se obtuvieron con los aislados de (*Trichoderma harzianum*) y (*Trichoderma viride*), este último mostró la mayor eficacia técnica en el control de *M. roleri* en condiciones de campo.

En la capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum*, Lanhsen *et al.*, (2001), observó que *Trichoderma harzianum*, tiene una alta expresión antifúngica a *P. palmivora* y *Rosellinia necatrix* BERL. EX PRILL.

En la evaluación de la cepa de *Trichoderma harzianum* ante el antagonismo dual de *P. palmivora* se obtuvo un crecimiento micelial de 0,371 mm, comparado con el de *P. palmivora* (0,111 mm) presentando un contacto micelial a las 112 h.

Villamil *et al.*, (2012), evaluaron *in vitro* hongos y bacterias, del genero *Trichoderma* y *Bacillus*, respectivamente, por su antagonismo contra *M. roleri* en Cacao, donde observaron microorganismos nativos que pueden ser aislados, ya sea de las partes aéreas de las plantas o del suelo, que tienen potencial para el control no solamente de *M. roleri* y *M. pernicioso* sino también de *Phytophthora sp.*

De acuerdo a Dennis y Webster (1971), las confrontaciones duales de los aislamientos de *Trichoderma* son altamente competitivas para reducir el crecimiento y desarrollo del patógeno *P. palmivora*. Se conoce que la colonización de *Trichoderma* se realiza por competencia de espacios y nutrientes, además de inhibir el crecimiento del micelio del *P. palmivora*, en el biocontrol, se ha observado con

frecuencia que *Trichoderma* es un excelente modelo para el control biológico de patógenos de la raíz, como el oomiceto *P. palmivora*.

Estos mismos autores refieren que *Trichoderma harzianum* tiene alto potencial para inhibir altos niveles de inhibición *in vitro* como control biológico sobre *P. palmivora*. Es válido mencionar que en la evaluación de las pruebas de antagonismo de los aislamientos de *Trichoderma* se observó una invasión total de la colonia de *P. palmivora*. El mecanismo de acción que utiliza el antagonismo de *Trichoderma* es por el sobrecrecimiento y el carácter ventajoso para la colonización en la competencia por espacio y nutrientes.

En tal sentido Folgueras *et al.*, (2008) al realizar un estudio de antibiosis “*in vitro*” entre *Trichoderma spp* y organismos patógenos causantes de pudriciones radicales en yuca describen que la actividad antagónica de *Trichoderma* depende del patógeno a controlar, los cuales comprobaron que a partir de las 48 horas de incubación, el aislamiento de *Trichoderma* empleado produjo un porcentaje de inhibición del crecimiento radial de los patógenos en estudio superior al 28 %, cuya capacidad antagónica se mantuvo en ascenso.

(Hakizimana *et al.*, 2011) al evaluar diferentes cepas de *Trichoderma* en el control de la pudrición negra del fruto del cacao observaron que a las 96 horas el antagonista alcanzó los mayores valores para el diámetro. Se comprobó que el hongo fitopatógeno dejó de crecer, mientras el antagonista continuaba creciendo hasta invadir totalmente la superficie de la colonia del hongo patógeno, lo que puede constituir una manifestación de los procesos de micoparasitismo.

Los resultados obtenidos de los tres aislamientos de *Trichoderma* concuerdan con los de Romero-Cortes *et al.*, (2016), quienes observaron efectos excelentes de antagonismo de *Trichoderma* contra *P. palmivora* y *Rosellina necatrix* en cultivos duales *in vitro*.

Carrera *et al.*, (2016) al estudiar la microbiota asociada a frutos de cacao en la amazonía ecuatoriana observaron en frutos infestados por *P. palmivora*, la presencia de micelio cenocítico, sin la formación de estructuras reproductivas sexuales, presencia de esporangios diferenciados conteniendo zoosporas. Se observaron abundantes esporangios papilados de forma ovoide que tenían como promedio 40,65

µm de largo y 23,62 µm de ancho. Estos mismos autores denotaron que dichas estructuras se forman fácilmente en medios de cultivo y que los esporangios presentan paredes bien definidas prevaleciendo las formas ovoides a elipsoidales.

Andrade *et al.*, (2017) refieren que *Trichoderma* es un antagonista imprescindible en el biocontrol de enfermedades causantes por muchos fitopatógenos que se encuentran en el suelo. La capacidad antagónica de estos microorganismos con frecuencia inhibe el crecimiento y desarrollo de patógenos que afectan a muchos cultivos de importancia económica.

Según Terrero *et al.*, (2018) es importante determinar el comportamiento de las cepas nativas de este género a fin de buscar estrategias que integren el uso de agentes de biocontrol con los fungicidas más usados en el cultivo de cacao.

Resultados similares a estos fueron obtenidos por León *et al.*, (2019), quienes observaron *in vitro* que la colonización y la producción de metabolitos inhibitorios solubles de aislamientos de *Trichoderma* endófito variaron en su habilidad para micoparasitar e inhibir el crecimiento micelial de *Verticillium dahliae* Kleb, agente causal de la muerte repentina del cacao en Perú.

4.2.2 Evaluación de productos fitosanitarios en campo para el control de *Phytophthora palmivora* en los clones UF – 650 y UF – 677.

Los resultados de este trabajo se muestran en la figura 11, donde se observa que las menores pérdidas de cosecha se produjeron cuando se aplicó la cepa TS - 3 fase sólida de *Trichoderma viride*, seguido de la cepa A-34 fase sólida de *Trichoderma harzianum* y el Oxiclورو de cobre (Cuproflow SC 37.75), respectivamente difiriendo significativamente del testigo, donde se alcanzaron las mayores pérdidas de la cosecha.

Estos resultados son similares a los descritos por Matos y Blaha, (1989), los cuales refieren que las pérdidas de cosecha por la pudrición negra de la mazorca del cacao ocasionadas por *P. palmivora* son del 9 al 17% en Baracoa, cuando no se aplica ningún tratamiento a las plantaciones.

Resultados similares fueron obtenidos por Matos y Clapé, (2012), los cuales evaluaron en una plantación de cacao (mezcla clonal), con clones UF – 650, UF – 654 y UF – 677 en Baracoa, el efecto antagónico de dos cepas de *Trichoderma* en el

control de *Phytophthora palmivora* contra el oxiclورو de cobre como fungicida químico y un testigo sin aplicación. Estos autores observaron que las plantas tratadas con *Trichoderma harzianum* presentaron la mayor cantidad de frutos sanos, superando con diferencias significativas a las tratadas con oxiclورو de cobre y al testigo.

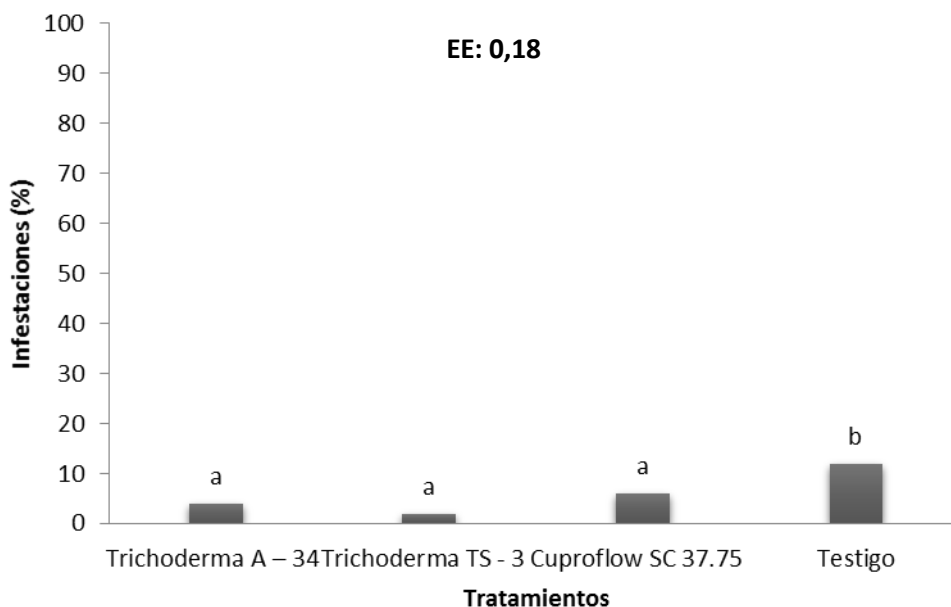


Figura 11. Pérdidas provocadas por *P. palmivora* con la utilización de diferentes tratamientos de *Trichoderma*.

Martínez, Infante y Reyes, (2013) informan que aplicaciones de *T. harzianum* y *T. viride* al follaje cada 14 días, permitieron una disminución, tanto de la intensidad, como de la severidad de la moniliasis en cacao.

Solís y Suárez, (2006), observaron que la reducción de plagas en parcelas de cacao, tratadas con *Trichoderma koningiopsis* Samuels, C. Suárez & H.C. Evans y *T. stromaticum* fueron similares a las obtenidas con fungicidas.

Trichoderma tiene efecto sobre hongos patógenos a través de mecanismos de acción, los que no son mutuamente excluyentes y pueden variar según el patógeno y la cepa a utilizar (Martínez, Infante y Reyes, 2013)

Acosta y Villa, (2016) sugieren a *Trichoderma spp* por su potencial como una alternativa de bajo costo para los tratamientos químicos convencionales en cultivos de cacao de baja escala.

Villamil *et al.*, (2015a) al aplicar antagonistas microbianos (*Trichoderma* y *Bacillus*) para el control biológico de *M. royeri* en una plantación con cruzamiento interclonal de *T. cacao* L. en Colombia, informan que la aplicación de estos antagonistas microbianos debe integrarse con prácticas de prevención de diseminación de la enfermedad como el uso de cortinas rompevientos, desinfección de herramientas, traslado de material vegetal y el transporte de animales o el mismo hombre entre lotes de cacao.

Según Noriega *et al.*, (2016) los microorganismos antagonistas presentan una alta motilidad, lo que les ayuda a establecerse en la rizosfera y podría contribuir a su actividad como controladores biológicos.

Reyes *et al.*, (2016) al estudiar el momento y la dosis de aplicación de *Trichoderma asperellum* para el control de *Rhizoctonia solani* en el cultivo del arroz observaron que todas las variantes evaluadas pueden ser empleadas como alternativas de aplicación en un programa de manejo del cultivo para disminuir la incidencia de esta enfermedad.

Por otra parte, Santana *et al.*, (2016) observaron efectos supresores de *T. harzianum* (cepa A-34), el extracto acuoso de Nim y su combinación sobre la población de *Meloidogyne spp.* en el cultivo del tomate, al reducir el índice de agallamiento, con diferencias significativas respecto al control.

Reyes-Figueroa *et al.*, (2016) al realizar un estudio de selección de aislamientos nativos de *Trichoderma* como antagonista contra *M. royeri* en un agroecosistema de cacao en México, observaron que de 50 aislamientos, nueve alcanzaron 100 % de micoparasitismo a los 15 días de incubación.

Los resultados de este trabajo son similares a los obtenidos por Carrera, (2016) al evaluar tres aislados de *Trichoderma spp*, como alternativas de control biológico en cacao, para la Amazonía ecuatoriana, quien observó que estos biocontroladores ejercieron el mejor control del porcentaje de mazorcas enfermas con respecto al

control, pero fueron inferiores al tratamiento químico con Óxido cuproso (Cobre Nordox 50).

Tuquerres, (2016) al evaluar cepas de *Trichoderma spp* en el control de la Monilia en Ecuador determinó que los bioformulados a base de aislados de *Trichoderma* tuvieron un efecto significativo sobre las plagas de cacao.

Contreras, (2017) al aplicar Oxicloruro de cobre, azufre y Clorotalonil, en una plantación de cacao del clon CCN – 51 en Ecuador, observó la mayor cantidad de frutos sanos en el tratamiento con aplicación de Clorotalonil a razón de 750 cc/ha, superando estadísticamente a los demás tratamientos y al testigo. Sin embargo, Alburqueque y Gusqui, (2018) al valorar la eficacia de fungicidas químicos para el control *in vitro* de diferentes fitopatógenos en condiciones controladas, observaron que los ingredientes activos eficientes para el control de *Phytophthora infestans in vitro* fueron Sulfato de cobre penta hidratado, y Clorotalonil.

Muñoz, (2019) al emplear fosetil aluminio, hidróxido de cobre y propineb contra *Phytophthora palmivora* en una plantación de cacao del clon CCN – 51 en Perú, observó que el Fosetil aluminio presentó un promedio de infestación de 18,20 % de mazorcas y mostró diferencia altamente significativa con relación al control (sin aplicación).

Hongos del género *Trichoderma* son ampliamente estudiados como agentes de biocontrol para varios hongos fitopatógenos, además como un potenciador de crecimiento de plantas, se caracterizan por su alto metabolismo, metabolitos antimicrobianos y la conformación fisiológica son factores que contribuyen al antagonismo de estos hongos. El micoparasitismo, la competencia por espacio y nutrientes, antibiosis y metabolitos secundarios son sistemas de defensa típicos de este género (Chávez, 2006).

El género *Trichoderma* también se caracteriza por ser saprofito, se alimenta de materia orgánica con la capacidad de descomponerla, revelando una mayor plasticidad en su ecología. Se ha registrado su presencia en todas las latitudes que va de la zona ecuatorial hasta los polos, lo que permite su amplia distribución y resistencia ecológica, estas características están ligadas con su capacidad

enzimática para la degradación de varios sustratos con un metabolismo versátil y resistencia a la inhibición microbiana (Nacimiento *et al.*, 2014).

El *Trichoderma* utiliza varios mecanismos de control biológico como parasitismo, antibiosis y competencia por espacio y nutrientes; también es capaz de promover el crecimiento y desarrollo del árbol e inducir la respuesta de defensa frente a patógenos. Varias especies de *Trichoderma* han sido estudiadas ampliamente por su potencial de control biológico en plagas de diferentes cultivos. Sin embargo, se sabe poco sobre la interacción del *Trichoderma* con el cacao y los hongos fitopatógenos (Tirado-Gallego *et al.*, 2016)

Trichoderma está entre los agentes de control biológico más exitosos en la agricultura, formando parte de más del 60 % de los biofungicidas registrados en el mundo. Este microorganismo está presente en el mercado como bioplaguicida, biofertilizante, promotor del rendimiento y crecimiento vegetal, y como solubilizador de nutrientes en campos agrícolas o descomponedor de materia orgánica (Hernández-Melchor *et al.*, 2019).

Las cepas de *Trichoderma* más comercializadas para el control biológico, para sistemas agroforestales-cacaotal, sustentables y para otros cultivos de importancia económica son *Trichoderma viride* y *T. harzianum* (López-Ferrer, *et al.*, 2017).

Las especies de *Trichoderma* predominan en ecosistemas terrestres (bosques o suelos agrícolas), tienen bajo requerimiento nutrimental pero relativamente amplio rango de temperatura (25-30°C) para su crecimiento (Sandle, 2014). Además, poseen alta adaptabilidad a condiciones ecológicas y pueden crecer de manera saprofítica, interactúan con animales y plantas y se desarrollan en diversos sustratos, lo cual facilita su producción masiva para uso en la agricultura (Zeilinger *et al.*, 2016). Es por ello que el estudio de la diversidad de especies de *Trichoderma* en diversos hábitats naturales, permite ampliar el conocimiento sobre su aporte biotecnológico, y su importancia ecológica y agrícola (Jaklitsch y Voglmayr, 2015; Torres-De la Cruz *et al.*, 2015).

Diversas especies de este género están asociadas con la rizósfera de plantas o pueden relacionarse de manera endofítica, por lo que pueden promover el crecimiento y desarrollo de las plantas, mediante la producción de auxinas y

giberelinas; también pueden producir ácidos orgánicos (glucónico, fumárico, y cítrico) que pueden disminuir el pH del suelo y propiciar la solubilización de fosfatos, magnesio, hierro y manganeso, los cuales son vitales para el metabolismo vegetal (Torres-De la Cruz *et al.*, 2015; Sharma *et al.*, 2017).

Este género fúngico es importante para las plantas, al contribuir en el control de hongos fitopatógenos, ya que poseen propiedades micoparasitarias y antibióticas, por lo que algunas especies han sido catalogadas como excelentes agentes de control biológico de hongos causantes de enfermedades en diferentes plantas (Argumedo-Delira *et al.*, 2009).

Las propiedades antagónicas de *Trichoderma* hacia hongos patógenos se basan en la activación de múltiples mecanismos que incluyen la competencia por nutrientes y espacio, el micoparasitismo, la antibiosis, la promoción del crecimiento vegetal, e inducción de respuestas de defensa vegetal (de Aguiar *et al.*, 2014; Sande 2014; Vargas-Hoyos y Gilchrist-Ramelli, 2015).

Durante el proceso de micoparasitismo, *Trichoderma* secreta enzimas que hidrolizan la pared celular de los hongos que parasita, siendo las más conocidas las proteasas, las quitinasas y las glucanasas (Marcello *et al.*, 2010; García- Espejo *et al.*, 2016), y provocan la retracción de la membrana plasmática y la desorganización del citoplasma. También inhiben la germinación de esporas y la elongación del tubo germinativo (Romero-Cortes *et al.*, 2016).

Charoenrak y Chamswarn, (2016) estudiaron el uso de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt y Nirenberg, en cultivo fresco y en forma de pellets, como agente de biocontrol del agente causal de la enfermedad de la decoloración de semillas de arroz (*Oryza sativa* Lin.) en Tailandia, encontrando que ambas formulaciones incrementaron la altura de la planta, el número de tallos, el peso de las semillas, y el rendimiento total de arroz, en comparación con el testigo no tratado; además de disminuir la incidencia de la enfermedad en las plantas.

Por otra parte, Hernández *et al.*, (2014) refieren que los microorganismos antagonistas ofrecen una alternativa ecológica para el manejo de plagas que afectan cultivos de importancia económica. Su aplicación en ecosistemas agrícolas sostenibles contribuye de manera substancial al mejoramiento de los suelos, la

disminución del uso de productos químicos en la agricultura y la protección del ambiente. Varios estudios evidenciaron la eficiencia de los grupos microbianos *Trichoderma*, *Pseudomonas* y *Bacillus* como antagonistas ante *P. palmivora*.

No obstante, a pesar de las potencialidades de estos antagonistas, no han sido desarrollados hasta el momento productos comerciales que puedan ser adoptados por los productores contra la pudrición negra del fruto en este cultivo, por lo que se debe profundizar en el estudio de los diferentes microorganismos propuestos y en sus mecanismos de acción para mejorar su efectividad cuando sean aplicados como inoculantes microbianos.

Reyes-Figueroa *et al.*, (2016) para desarrollar un estudio de especies de *Trichoderma* del agroecosistema cacao del estado de Tabasco, México, con potencial de biocontrol sobre *Moniliophthora roreri*, obtuvieron los aislamientos a partir de la rizosfera de *T. cacao* como parte de un estudio de diversidad de este antagonista, y las especies fueron confirmadas mediante morfología y secuencias ITS.

Tuquerres, (2016) al evaluar cepas de *Trichoderma* para el control de Monilia en Ecuador refiere que cuando *Moniliophthora roreri* alcanzó un desarrollo de 30 mm de diámetro (cinco días después de la siembra) se enfrentó mediante cultivo dual con los microorganismos antagonistas. Para la evaluación de los aislados de *Trichoderma* se colocó en el extremo opuesto de la caja de Petri un disco de 4,3 mm de diámetro con micelio del antagonista (seis días de edad) con 50 mm de separación entre antagonista y patógeno.

Según Ramírez, (2016) al realizar un estudio de las pérdidas económicas asociadas a la pudrición de la mazorca del cacao causada por *Phytophthora spp.*, y *Moniliophthora roreri* en Colombia observó que las variables con mayor relación y que logran explicar las pérdidas causadas por esta enfermedad fueron la edad del cultivo, la precipitación, el total de mazorcas por plantas, la humedad relativa, la incidencia y la severidad con signos positivos, lo cual indica que su relación es directa y cualquier aumento en cada una de estas variables incrementa las pérdidas causadas por esta enfermedad.

Según Jaimes y Aranzazu, (2010) las plagas se controlan de manera más eficiente haciendo uso de diversas formas de control, que enfrentan a la plaga de forma integrada. Pues abusar sólo del control químico a la larga trae consecuencias graves como la aparición de plagas resistentes; además de tener el problema de contaminación ambiental y del personal que realiza las aplicaciones. Los diversos tipos de control que podemos utilizar son: control biológico, cultural, mecánico, etológico y químico. De la integración adecuada de todas estas estrategias, dependerá el éxito en el control de las plagas.

El control es una medida empleada para reducir, eliminar o llevar a niveles aceptables diferentes tipos de organismos vivos que pueden causar plagas en cultivos, por lo tanto, una estrategia de control es una combinación de varias medidas de intervención, en la cual se desarrollan diferentes técnicas metodológicas con el fin de mantener la sanidad vegetal del cultivo y, de esta manera, evitar que se propague una enfermedad (Tirado-Gallego *et al.*, 2016)

Este tipo de control se basa en la utilización de seres vivos, ya sean microorganismos o insectos “buenos” que combaten a los que son plaga. El uso de este tipo de control es compatible con el control químico siempre y cuando se respete el periodo de carencia de los pesticidas.

En los últimos años se han adelantado investigaciones con resultados promisorios *in vitro*, pues no existen productos comerciales. Los resultados sugieren que las poblaciones de hongos endófitos presentes en los tejidos del cacao pueden proteger al árbol cuando éstos son aislados, seleccionados y reintroducidos al sistema del cultivo en un tamaño de población más grande, la cual protege contra *Phytophthora sp.* (Drenth y Guest, 2013); tal es el caso de especies de *Geniculosporium*, que fueron aisladas de hojas sanas de cacao en Camerún (Tondje *et al.*, 2006).

Guerrero y Arias, (2012) al realizar una evaluación del efecto de dos fungicidas químicos (óxido de cobre y azoxistrobina), sobre el desarrollo de dos especies de *Trichoderma* utilizadas en el biocontrol de hongos patógenos de cacao observaron que es posible integrar los agentes de biocontrol, *Trichoderma koningiopsis* y *T. stromaticum*, y los químicos en la estrategia de manejo integrado de plagas en el cultivo de cacao. Junaid *et al.*, (2013); Martínez, Infante y Reyes, (2013) informaron

que la antibiosis, la producción de compuestos antimicrobiales, el micoparasitismo y la alimentación de un hongo por otro organismo son algunos de los mecanismos de las especies de *Trichoderma* que brindan protección a las plantas contra sus patógenos. Según Bailey *et al.*, (2008) la selección de las cepas de *Trichoderma* con buena capacidad endófitica, además de otros atributos tales como micoparasitismo, antibiosis o resistencia inducida, puede mejorar en gran medida las posibilidades de desarrollar estrategias de control biológico de las enfermedades del cacao.

Según Carrera *et al.*, (2016) en el manejo del cultivo de cacao se incluyen labores fitosanitarias que de no hacerlas, pueden afectar hasta un 30 % de la producción de los cacaotales.

Drenth y Guest, (2013) refieren que el método más utilizado es el control cultural, que involucra labores para adecuar la sombra y el tamaño del dosel de los árboles de cacao, con lo cual se permite la entrada de luz y el flujo de aire dentro del cultivo. También, incluye el uso de distancias de siembra adecuadas, las podas en la época establecida para cada región, el control de arvenses y la oportuna cosecha. Algunas de estas prácticas son usadas por los agricultores para estimular la floración y favorecer el desarrollo de las mazorcas.

Otras labores culturales que implica el control sanitario de esta enfermedad tienen que ver con la recolección frecuente y disposición adecuada de las mazorcas momificadas e infectadas y las cacotas, con esta labor se reduce el nivel del inóculo y los vectores (insectos) del patógeno. Estos residuos se incorporan a la hojarasca con abonos orgánicos, tales como la gallinaza o con inorgánicos como la cal, con el fin de incrementar la acción de los microorganismos benéficos, que aceleran su descomposición.

Ramírez, (2016) refiere que la remoción de hormigueros y de tejido afectado por *Phytophthora sp.*, son prácticas sanitarias importantes, ya que evitan la dispersión del inóculo. De igual manera, la presencia de hojarasca y cobertura impide la diseminación de la enfermedad ya que amortiguan las salpicaduras de la lluvia y promueven la riqueza de poblaciones microbianas que favorecen la descomposición de los tejidos infectados por *Phytophthora sp.* Otro método de control estudiado es el

manejo genético aún sin resultados promisorios. En la actualidad se adelantan varios esfuerzos por seleccionar y desarrollar materiales resistentes.

Deberdt, *et al.*, (2008); Acebo-Guerrero, *et al.*, (2012) recomiendan estas prácticas como las estrategias más sostenibles para el manejo integrado de esta enfermedad. El efecto de las dos prácticas se explica en el hecho de que la primera es una estrategia que permite la aireación de toda la planta, disminuye la humedad relativa y la presencia de microclimas, además de lograr que los rayos del sol puedan entrar en lugares de posibles reservorios de estructuras infectivas del patógeno.

Al respecto Ndoumbè, *et al.*, (2004) plantean que la remoción de fuente de inóculo, logra disminuir la presión y da lugar a que se presenten menores infecciones. La mazorca negra es de difícil control por la persistencia de las especies de *Phytophthora*, tanto en el suelo como en los residuos de cosecha. Para alcanzar el éxito en el control de la enfermedad, la principal estrategia es la reducción de las fuentes de inóculo primario y secundario de *Phytophthora* sp., a través de la implementación del manejo integrado (Drenth y Guest, 2013).

Drenth y Guest, (2013) sugieren como otro método empleado para manejar la mazorca negra en las zonas cacaocultoras el control químico; éste usa sustancias protectantes a base de cobre, junto con fungicidas sistémicos a base de metalaxyl. Las inyecciones de sales de fosfato de potasio resultan ser una medida de control químico muy eficaz, especialmente para el control del cáncer ocasionado sobre troncos y ramas.

CONCLUSIONES

V.- CONCLUSIONES:

1. El estudio demostró que de las diferentes plagas que atacan al cacao los técnicos que dirigen y ejecutan la labor fitosanitaria reconocen a *Phytophthora palmivora* como el principal problema en los clones de estudio UF – 650 y UF – 677.
2. El estudio permitió conocer el nivel de experiencia y las diferentes medidas empleadas por los técnicos para el control de *Phytophthora palmivora* en los clones de estudio UF – 650 y UF – 677.
3. Los ensayos realizados en condiciones de laboratorio y campo para el control de *Phytophthora palmivora* en los clones de cacao UF – 650 y UF – 677 evidenciaron un significativo efecto antagónico para las diferentes cepas de *Trichoderma* spp., estudiadas.
4. Los ensayos realizados en condiciones de laboratorio para el control de *Phytophthora palmivora* constataron que la cepa autóctona de *Trichoderma* sp., es promisorio y debe pasar previa evaluación a su producción comercial en los CREEs del país.

RECOMENDACIONES

V.- RECOMENDACIONES:

1. Los estudios realizados deben extenderse como experiencia en las zonas cacaoteras que empleen los clones UF – 650 y UF – 677 como base productiva.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VII.-REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Acebo-Guerrero Y, Hernández-Rodríguez A, Heydrich-Pérez M, El jaziri M, Hernández-Lauzardo AN. 2012. Management of black pod rot in cacao (*Theobroma cacao* L.). *Fruits*. 67:41-48.
2. ACIAR Annual Report 2013-14. [En línea] Disponible en: <http://www.aciar.gov.au/publication/ar2013-14>. [Consulta: enero 8 2018].
3. Acosta S., J. A. Villa. 2016. Evaluación de *Trichoderma spp* como control biológico en una plantación a pequeña escala de cacao. *Rev. Journal of Agriculture and Animal Sciencies*. 5(2): 8-18.
4. Adebola MO, Amadi JE. 2010. Antagonistic activities of *Paecilomyces* and *Rhizopus* species against the cocoa black pod pathogen (*Phytophthora palmivora*). *African Scientist*. 11(4):235-239.
5. Agrios GN. Control of plant diseases. 2005. *Plant Pathology*. Burlington, MA, USA, Elsevier Academic Press. 5th Ed: 295-350. Editor: Dana Dreibelbis.
6. Aikpokpodion, P.O. 2012. Defining genetic diversity in the chocolate tree, *Theobroma cacao* L. grown in West and Central Africa. En: M. Caliskan (ed). *Genetic diversity in plants*. InTech. Croatia. págs. 185-212.
7. Alburqueque Diana y R. Gusqui. 2018. Eficacia de fungicidas químicos para el control *in vitro* de diferentes fitopatógenos en condiciones controladas. *Rev. Arnaldoa* 25 (2): 489-498.
8. Al-Hazmi, A.S., and M.T. Javeed. 2016. Effects of different inoculum densities of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* against *Meloidogyne javanica* on tomato. *Saudi Journal of Biological Sciences* 23:288-292. [Links]
9. Alioscha J.; Teresa Romero; P. A. López y M. Ramírez. 2014. El cultivo del cacao, plagas, identificación de hongos, modelado y métodos de control. *Revista de divulgación técnica* No.58: 1- 8.
10. Almándo J., E. Fernández, G. González, K. Casanueva, Y. Baró, A. Porras, G. Orbeal y J. A. Díaz. 2016. Análisis de la utilización de agentes de control biológico en los sistemas de cultivos protegidos en Cuba. *Rev. Fitosanidad* 20(1):45-51

11. Andrade Petra; E. Molina; Judith Isidro; E. Hernández; Yesenia Arlette Cortés y L. M. Rivera. 2017. Control biológico *in vitro* de *Phytophthora cinnamomi* con *Trichoderma spp.* Memorias del V Congreso Latinoamericano del Aguacate. 04 - 07 de septiembre. Ciudad Guzmán, Jalisco, México.
12. ANECACAO. 2016. Cultivo de cacao. [en línea]. Disponible en: [http://www.anacafe.org/glifos/index.php?title=Cultivo de cacao#Plagas](http://www.anacafe.org/glifos/index.php?title=Cultivo%20de%20cacao#Plagas). [Consulta: abril 2 2019]
13. Anzules, V.; Borjas, R.; Alvarado, L.; Castro-Cepero, V.; Julca-Otiniano, A. 2019. Control cultural, biológico y químico de *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora spp* en *Theobroma cacao* 'CCN-51'. Scientia Agropecuaria 10(4): 511-520.
14. Anzules, V.; Borjas, R.; Castro-Cepero, V.; Julca-Otiniano, A. 2018. Caracterización y tipificación de fincas productoras *Theobroma cacao* L. en Santo Domingo de Los Tsáchilas, Ecuador. Revista Bosques Latitud Cero 8(2): 39-50.
15. Argumedo-Delira, R., A. Alarcón, R. Ferrera-Cerrato, y J.J. Peña-Cabriales. 2009. El género fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánicos e inorgánicos. Revista Internacional de Contaminación Ambiental 25(4):257-269.
16. Argumedo-Delira, R., A. Alarcón, R. Ferrera-Cerrato, y J.J. Peña-Cabriales. 2009. El género fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánicos e inorgánicos. Revista Internacional de Contaminación Ambiental 25(4):257-269. [Links]
17. Bailey, B. A., Bae, H., Strem, M. D., Crozier, J., Thomas, S. E., Samuels, G. J., Holmes, K. A. 2008. Antibiosis, mycoparasitism, and colonization success for endophytic *Trichoderma* isolates with biological control potential in *Theobroma cacao*. *Biological Control*, 46(1), 24-35.
18. Bailey, B. A., y Meinhardt, L. W. 2016. Cacao diseases: A history of old enemies and new encounters. Cacao Diseases: A History of Old Enemies and New Encounters. [En línea] Disponible en: <https://www.doi.org/10.1007/978-3-319-24789-2>. [Consulta: enero 5 2019].
19. Barragán-Ocaña, A., and M. del C. del-Valle-Rivera. 2016. Rural development and environmental protection through the use of biofertilizers in agriculture: An

- alternative for underdeveloped countries?. *Technology in Society* 46:90-99. [Links]
20. Barreto, S.M., Ó.J.S. Toro, y L.F.G. Mosquera. 2011. Representación matemática de la producción de enzimas lignocelulolíticas por fermentación en estado sólido empleando *Coriolus versicolor*. *Vector* 6:63-70. [Links]
 21. Bartley, B. 2005. *The genetic diversity of cacao and its utilization*. Cabi Publishing. Massachusetts, United States of America. 357 pp.
 22. Batista, L. 2009. *Guía Técnica el Cultivo de Cacao en la República Dominicana*. CEDAF. Santo Domingo, República Dominicana. 250 pp.
 23. Bhattacharjee, R. y Kumar, P.L. 2007. Cacao. En: C. Kole (ed). *Genome mapping and molecular breeding in plants*. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. págs. 127-142.
 24. Bidot, I. 2015. Variabilidad morfológica, genética y propuesta de colección núcleo de *Theobroma cacao* L. tradicional cubano. Tesis (en opción al grado de Doctor en Ciencias Biológicas). Universidad de la Habana. Facultad de Biología. 165 p.
 25. Bidot, I.; M. Riera; Marie-Christine Flamand, y P. Bertin. 2014. Genetic diversity and population structure of anciently introduced Cuban cacao *Theobroma cacao* plants. *Rev. Genet Resour Crop Evol.* 61(5).
 26. Bidot, I.; Marlyn Valdés; M. Riera y P. Bertin. 2015a. Morphological characterization of traditional cacao (*Theobroma cacao* L.) plants in Cuba. *Rev. Genet Resour Crop Evol.* 62(8).
 27. Bidot, I.; P. Clapé; Y. Matos; M. Riera y P. Bertin. 2015b. Distribución geográfica y clasificación según el color del cotiledón del cacao cubano antiguo. *Rev. Hombre, Ciencia y Tecnología.* 19 (2): 79-87.
 28. Cárdenas Pardo NJ, Darghan A, Sosa Rico MD, Rodríguez A. 2017. Análisis espacial de la incidencia de plagas en diferentes genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) en El Yopal (Casanare), Colombia. *Acta biol. Colomb.* 22 (2): 209-220.
 29. Carrera Karina María Elena. 2016. Caracterización de *Moniliophthora roreri* Evans et al. y evaluación de alternativas de control biológico en cacao, para la Amazonía ecuatoriana. Santa Clara 120 p. Tesis (en opción al grado de Doctor

- en Ciencias). Universidad Central "Marta Abreu" -- Universidad Estatal Amazónica, Ecuador.
30. Carrera-Sánchez Karina, Lidcay Herrera Isla, M. Díaz-Castellanos y Michel Leiva -Mora. 2016. Micobiota asociada a frutos de cacao con síntomas de moniliasis en la amazonía ecuatoriana. Rev. Centro Agrícola, 43 (1): 48-54
 31. Castillo, Y.; Miranda, I. (2014): COMPAPROP: Sistema para comparación de proporciones múltiples. Rev. Protección Veg. 29(3): 231 -234.
 32. Castrillo, M., G. Bich, G. Kramer, J. Velazquez, M. Rodriguez, P. Zapata, et al. 2015. Evaluation of synthetic and semi- synthetic culture media for endo-1,4- β -glucanases secretion by *Trichoderma koningiopsis*. Procedia Materials Science 8:786-792. [Links]
 33. CCI (Centro de Comercio Internacional UNCTAD/GATT).1991. Resumen para los servicios de Información comercial. Cacao fino o de de aroma. Estudio de la producción y el comercio mundiales. Ginebra 1991. 60 p.
 34. Charoenrak, P., and C. Chamswarng. 2016. Efficacies of wettable pellet and fresh culture of *Trichoderma asperellum* biocontrol products in growth promoting and reducing dirty panicles of rice. Agriculture and Natural Resources 50:243-249.
 35. Charoenrak, P., and C. Chamswarng. 2016. Efficacies of wettable pellet and fresh culture of *Trichoderma asperellum* biocontrol products in growth promoting and reducing dirty panicles of rice. Agriculture and Natural Resources 50:243-249. [Links]
 36. Chávez, M. 2006. Producción de *Trichoderma spp.* y evaluación de su efecto en cultivo de Crisantemo (*Dendranthema grandiflora*). Bogota.
 37. Contreras, P. Y. 2017. Control fitosanitario en el cultivo de cacao CCN 51 con tres grupos de fungicidas sobre los problemas que afectan a su producción, en la zona de San Antonio, Cantón Pueblo-viejo. Trabajo de Diploma (en opción al título de Ingeniero Agrónomo) --Universidad Técnica de Babahoyo - Ecuador. 53 p.
 38. Cope, FW. 1976. Cacao. *Theobroma cacao* L. (Sterculiaceae). Evolution of crop Plants. London, UK and New York, US Longman, Ed. NW Simmonds. p. 285-289.

39. Dashtban, M., H. Schraft, and W. Qin. 2009. Fungal bioconversion of lignocellulosic residues; opportunities & perspectives. *International Journal of Biological Sciences* 5(6):578-595. [Links]
40. De Aguiar, R.A., M.G. da Cunha, and M.L. Junior. 2014. Management of white mold in processing tomatoes by *Trichoderma* spp. and chemical fungicides applied by drip irrigation. *Biological Control* 74:1-5.
41. De Souza, J. T., Bailey, B. A., Pomella, A. W. V., Erbe, E. F., Murphy, C. A., Bae, H., y Hebbar, P. K. 2008. Colonization of cacao seedlings by *Trichoderma stromaticum*, a mycoparasite of the witches' broom pathogen, and its influence on plant growth and resistance. *Biological Control*, 46(1), 36-45
42. Deberdt P, Mfegue CV, Tondje PR, Bon MC, Ducamp M, Hurard C, *et al.* 2008. Impact of environmental factors, chemical fungicide and biological control on cacao pod production dynamics and black pod disease (*Phytophthora megakarya*) in Cameroon. *Biological Control*. 44:149-159.
43. Dennis, C., and Webster, J. 1971. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. I. Production of nonvolatile antibiotic. *Transactions of the British Mycological Society* 57(1): 25-39.
44. Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M., y Robledo, C. W. 2008. InfoStat software estadístico, Manual del Usuario (Versión 2008). Córdoba, Argentina: Universidad Nacional de Córdoba.
45. Diáñez, M.F., M. Santos, F. Carretero, and F. Marín. 2016. *Trichoderma saturnisporum*, a new biological control agent. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 96(6):1934-1944. [Links]
46. Dimbi, S. N., Maniania, N. K., Lux, S. A., y Mueke, J. M. (2004). Effect of constant temperaturas on germination, radial growth and virulence of *Metarhizium anisopliae* to three species of African tephritid druit flies. *BioControl*, 49(1), 83–94.
47. Drenth, A. y Guest, D. 2013. *Phytophthora*: la destructora de plantas Palabras clave. Especial, Tomo I, p.34.
48. Enríquez A. G. 1992. Characteristics of cacao “Nacional” of Ecuador. In *International workshop on conservation, characterization and utilization of cocoa*

- genetic resources in the 21 st century, the cocoa research Unit, the University of the West Indies. Port-of-Spain, Trinidad, TT p. 269-278.
49. Enríquez A. G. 2004. Cacao Orgánico: Guía para productores ecuatorianos. Quito, EC. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. (Manual 54). 360 p.
 50. Enríquez A. G. y C. Salazar. 1987. Manual del Cacao para agricultores. 1ra Edición San José CR. EUNED. Coedición: CATIE-ACRI-UNED. 150 p.
 51. Enríquez, G. 2010. Cacao Orgánico. Guía para productores ecuatorianos. Quito, Ecuador. 360 pp.
 52. Erwin DC, Ribeiro OK. 1996. *Phytophthora* Diseases Worldwide. American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minnesota, pp. 562.
 53. Fagbohun ED, Lawal OU. 2011. A field trial of crude extract from *Phytophthora palmivora* – infected cocoa pods to control black pod disease in a farm in Iworoko Ekiti, Ekiti State. Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development. 3(6):100-104.
 54. Fajardo, L. Figueredo, Y.P. Rosabal, U. Rodríguez, Y. Silvia, J.J. Viera, Y. 2020. Contenido de polifenoles totales en callos de *Theobroma cacao* L. clon 'UF-650'. Biotecnología Vegetal. 20(1): 63 - 72
 55. FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2018). [en línea] Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/en/#home>. [consulta: agosto 17 2020].
 56. FAOSTAT, 2014. Cacao harvested area and production. [en línea] Disponible en: <http://www.fao.org/statistics>. [consulta: septiembre 2 2014].
 57. Fernández Maura Yurelkys, P. Lachenaud, C. Decock, A. Díaz Rodríguez y Noryaisi Abreu Romero. 2018. Caracterización de *Phytophthora*, agente etiológico de la pudrición negra de la mazorca del cacao en Cuba y Guyana Francesa. Revista Centro Agrícola 45(3):17-26.
 58. Fister, A. S., Mejia, L. C., Zhang, Y., Herre, E. A., Maximova, S. N. and Guiltinam, M. J. 2016. *Theobroma cacao* L. pathogenesis-related gene tandem array members show diverse expression dynamics in response to pathogen colonization. BMC Genomics, 17:363.

59. Folgueras, M., Lidcay Herrera, S. Rodríguez y Xiomara Rojas. (2008). Antibiosis “*In vitro*” entre el antagonista *Trichoderma spp.* Y organismos patógenos causantes de pudriciones radiculares en yuca (*Manihot esculenta* Crantz). Centro Agrícola, 35(2), 51-53.
60. Frances L. Bekele, Gillian G. Bidaisee, Harjit Singh, *et al.* 2020. Morphological characterisation and evaluation of cacao (*Theobroma cacao* L.) in Trinidad to facilitate utilisation of Trinitario cacao globally. Genetic Resources and Crop Evolution. Vol.67, No.3, p.621.
61. Franzen M. y Borgerhof M. 2007. Ecological, economic and social perspectives on cocoa production worldwide. Biodivers Conserv. 16:3835-3849.
62. FUNDACITE (Fundación para la ciencia y la Tecnología). 1998. Plan para el manejo del cacao. FUNDACITE-ARAGUA. Maracay, Estado Aragua, VE. 9 p.
63. García-Espejo, C.N., M.M. Mamani-Mamani, G.A. Chávez-Lizárraga, y M.T. Álvarez-Aliaga. 2016. Evaluación de la actividad enzimática del *Trichoderma inhamatum* (BOL-12 QD) como posible biocontrolador. Journal of the Selva Andina Research Society 7(1):20-32. [Links]
64. García-Espejo, C.N., M.M. Mamani-Mamani, G.A. Chávez-Lizárraga, y M.T. Álvarez-Aliaga. 2016. Evaluación de la actividad enzimática del *Trichoderma inhamatum* (BOL-12 QD) como posible biocontrolador. Journal of the Selva Andina Research Society 7(1):20-32.
65. González, C.J.C. 2007. Identificación de Hongos Fitopatógenos que afectan el cultivo de Cacao (*Theobroma cacao* L) en la Finca Bulbuxya, San Miguel Panan Suchitepequez., Facultad de Agronomía. Guatemala, San Carlos, p. 79.
66. González-Peña D., Guadalupe Gómez, Ana Fernández, *et al.* (2016). Actividad inhibitoria de un polímero de quitosana en el crecimiento vegetativo y la reproducción asexual de un aislado de *Phytophthora palmivora* Butler. Rev. Protección Veg. 31 (2) 99-106
67. Griffith, G.H. and Shaw, D.S. 1998. Polymorphism in *Phytophthora infestan*: Four Mitochondrial haplotips are detected after PCR Amplification of DNA from pure cultures or from Host lesions. Aplied of Enveronmental Microbiology. 64(10): 4007-4014. Monografia sobre *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary.

68. Guédez, C., Cañizález, L., Castillo, C., y Olivar, R. 2009. Efecto antagónico de *Trichoderma harzianum* sobre algunos hongos patógenos postcosecha de la fresa (*Fragaria spp.*). Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología, 29, 34-38.
69. Guerrero Raquel y D. Arias. 2012. Evaluación del efecto de fungicidas sobre el desarrollo de dos especies de *Trichoderma* (Fungi: Ascomycota: Hypocreaceae) utilizadas en el biocontrol de hongos patógenos de cacao. Revista Amazónica de Ciencia y Tecnología. 1(1): 11-17
70. Hakizimana, J. D.; Gryzenhout, M.; Coutinho, T. A.; Van Den Berg, N. 2011. Endophytic diversity in *Persea americana* (avocado) trees and their ability to display biocontrol activity against *Phytophthora cinnamomi*. Proceedings VII World Avocado Congress, Cairns, Australia.
71. Hanada RE, de Souza JT, Pomella AWW, Hebbar KP, Pereira JO, et al. 2008. *Trichoderma martiale* sp. nov., a new endophyte from sapwood of *Theobroma cacao* with a potential for biological control. Mycological Research. 112: 1335-1343.
72. Hardy F. 1961. Manual del Cacao. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas (IICA).Turrialba, CR. 437 p.
73. Harman, G. E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 96(2), 190-194.
74. Hartmann, A. and Larramendi, J. 2011. Baracoa, birthplace of cacao in Cuba. Editorial Stockmans Publishing.
75. Hernández A., J. M. Pérez, D. Bosch y N. Castro. 2019. La clasificación de suelos de Cuba: énfasis en la versión de 2015. Rev. Cultivos Tropicales. 40(1): a15-e15.
76. Hernández-Melchor Dulce Jazmín, R. Ferrera-Cerrato y A. Alarcón. 2019. *Trichoderma*: importancia agrícola, biotecnológica y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. Rev. Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia, 35(1): 98-112.
77. Hernández-Rodríguez A, Ruiz Y, Acebo-Guerrero Y, Miguélez-Sierra Y, Heydrich M. 2014. Antagonistas microbianos para el manejo de la pudrición negra del fruto

- en *Theobroma cacao* L. Estado actual y perspectivas de uso en Cuba. Rev. Protección Vegetal. 29(1):11-19.
78. Ho – Hing, H. 1990. *Phytophthora*: Características, diagnóstico y daños que provoca en algunos cultivos tropicales. Medidas de control. Características, diagnóstico y daños que provoca en algunos cultivos tropicales. Medidas de control. Taiwan *Phytophthora*. Bot Bull Academia Sinica (31):89 – 106.
79. Hubeaux D. 2010. Caracterisation du *Phytophthora*, agent de la pourriture brune de la cabosse, à Cuba. B. Sc. Louvain: Université Catholique de Louvain. 90 pp.
80. IBERIACOCOATRADING. Corporate intranets: Clasificación del cacao. [en línea] septiembre 2016. Disponible en: <https://iberiacocoatrading.wordpress.com/2016/09/25/clasificacion-del-cacao/> [Consulta: febrero 11 2020].
81. ICCO International Cocoa Organization. 2012. How many smallholders are there worldwide producing cocoa? What proportion of cocoa worldwide is produced by smallholders? [En línea] Disponible en: <http://www.icco.org/faq/57-cocoa-production/123-how-many-smallholders-are-there-worldwide-producing-cocoa-what-proportion-of-cocoa-worldwide-is-produced-by-smallholders.html>. [Consulta: abril 11 2016].
82. ICCO Organización Internacional del Cacao, GB. 2011. Informe anual 2010/2011 [en línea]. Disponible en <http://www.icco.org/>. Londres, Reino Unido. ICCO. 48 p. [consulta: octubre 12 2018].
83. Infante Palacios, C. A. 2019. Manejo integrado de los principales insectos-plagas en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.), en la zona de Mata de Cacao. Trabajo de Titulación (en opción al título de Ingeniero Agropecuario) -- Universidad Técnica de Babahoyo – Facultad de Ciencias Agropecuarias. Ecuador. 29 p.
84. Jaimes, Y. y F. Aranzazu. 2010. Manejo de las plagas del cacao (*Theobroma cacao* L.) en Colombia, con énfasis en monilia (*Moniliophthora roreri*). CORPOICA, Produmedios, Bogotá. 90 pp.

85. Jaklitsch, W.M., and H. Voglmayr. 2015. Biodiversity of *Trichoderma* (Hypocreaceae) in Southern Europe and Macaronesia. *Studies in Mycology* 80:1-87.
86. Junaid, J. M., Dar, N. A., Bhat, T. A., Bhat, A. H., y Bhat, M. A. 2013. Commercial biocontrol agents and their mechanism of action in the management of plant pathogens. *International Journal of Modern Plant y Animal Sciences*, 1(2), 39-57.
87. Kamoun, S. 2002. Basic Biology: Information of Mechanisms that make *Phytophthora infestans* a Pathogen. In: GILB` 02 Conference Late blight: Managing The Global Threat. Abstracts. 11-13 July, Hamburg, Germany. Monografía sobre *Phytophthora infestans* (MONT) DE BARY.
88. la Grange, D.C., R. den Haan, and W.H. van Zyl. 2010. Engineering cellulolytic ability into bioprocessing organisms. *Applied Microbiology and Biotechnology* 87:1195 -1208. [Links]
89. Lambertt, W; M. Menéndez y Mercedes Bárbara Pierra. 2015. Afectaciones de *Bocchoropsis pharapsalis* Druce en clones e híbridos de *Theobroma cacao* Lin. en Baracoa. *Revista Café Cacao* 14(2):55-60.
90. Lanhsen, H., Soler, A., Rey, M.J., De la Cruz, J., Monte, E. y Llobell, A. 2001. An antifungal exo-1,3-glucanase (AGN13.1) from the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. *Applied and Environmental Microbiology* 67:5833-5839.
91. Lanz O. y Yubelitza Granado. 2009. Diagnóstico Agrosocioeconómico del Sector cacao (*Theobroma cacao* L.) en Yaguaraparo, Municipio Cajigal, estado Sucre, Venezuela. *Revista UDO Agrícola* 9 (2): 425-435.
92. León - Ttacca Betsabe, E. Arévalo – Gardini y Anne-Sophie Bouchon. 2019. Muerte repentina de *Theobroma cacao* L. causado por *Verticillium dahliae* Kleb. en el Perú y su biocontrol *in vitro*. *Revista de Ciencia y Tecnología Agropecuaria, Mosquera (Colombia)*, 20(1): 117 – 132.
93. López Medina S. E. y A. E. Gil Rivero. 2017. Características germinativas de semillas de *Theobroma cacao* L. (Malvaceae) “cacao”. *Revista Arnaldoa* 24 (2): 609 – 618.
94. López, P; Delgado, V; Aspeitia, A; López, J. 1996. Manual para la Producción del Cultivo del Cacao en Tabasco: Rehabilitación y Renovación. Instituto de

- Investigaciones Forestales y Agropecuarias. “Campo Experimental Huimanguillo”. p. 17-21. (Folleto Técnico).
95. López-Ferrer Ursula del Carmen, Hortensia Brito-Vega, D. López-Morales, J. M. Salaya-Domínguez y E. Gómez-Méndez. 2017. Papel de *Trichoderma* en los sistemas agroforestales-cacaotal como un agente antagónico. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 20: 91 - 100
 96. Marcello, C.M., A.S. Steindorff, S.P. Silva, R.N. Silva, L.A.M. Bataus, and C.J. Ulhoa. 2010. Expression analysis of the exo-p-1,3-glucanase from the mycoparasitic fungus *Trichoderma asperellum*. *Microbiological Research* 165:75-81. [Links]
 97. Marcello, C.M., A.S. Steindorff, S.P. Silva, R.N. Silva, L.A.M. Bataus, and C.J. Ulhoa. 2010. Expression analysis of the exo- β -1,3-glucanase from the mycoparasitic fungus *Trichoderma asperellum*. *Microbiological Research* 165:75-81.
 98. Maridueña, M. 2011. Estudio de la micobiota patogénica de “cacao criollo” (*Theobroma cacao*) en cinco provincias de la costa ecuatoriana y evaluación de la efectividad *in vitro* de los bioles locales para su control. Tesis para la obtención de título de Máster en Biotecnología agrícola con mención en agricultura orgánica. Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción. Ecuador. pp 7-12.
 99. Márquez Rivero J.J. y María Beatriz Aguirre Gómez. 2015. Resultados de un proyecto de capacitación sobre cosecha y beneficio del cacao. *Revista Café Cacao* 14(1): 35-40.
 100. Márquez Rivero J.J. y María Beatriz Aguirre Gómez. 2019. Propagación del cacao en tubetes. Manual Técnico. Ediciones Acuario. ISBN 978-72-2658-1. 53p.
 101. Martínez E. y Pérez L. 2015. Incidencia de plagas fúngicas en plantaciones de cacao de las provincias orientales de Cuba. *Rev. Protección Veg.* 30 (2): 87-96.
 102. Martínez, B., Infante D. y Reyes Y. 2013. *Trichoderma spp.* y su función en el control de plagas en los cultivos. *Protección Vegetal* 28 (1): 1-11.
 103. Mata-Quirós, A. Arciniegas-Leal, A. Phillips-Mora, W. Meinhardt, L. Mischke, S. Zhang, D. 2018. Assessing hidden parentage and genetic integrity of the

- “United Fruit Clones” of cacao (*Theobroma cacao*) from Costa Rica using SNP markers. *Breeding Science*. 9pp. doi:10.1270/jsbbs.18057
- 104.** Matos G., Blaha G., Rodríguez F., Cabrera M., Márquez J., Martínez F., *et al* 1998. Losses due to *Phytophthora palmivora* (Butl.) and other agents on cocoa plantations in Baracoa. *Café y Cacao*. 2:7-11.
- 105.** Matos Y., Belkis Peteira, G. Matos, C. Decock, D. Hubeaux, W. Lambertt, I. Bidot, Yanelis Acebo, P. Ochoa y P. Clapé. 2011. Prueba de apareamiento en 90 aislamientos de *Phytophthora*, provenientes de frutos enfermos de cacao (*Theobroma cacao* Lin.) en el municipio de Baracoa, provincia Guantánamo, Cuba. *Rev. Protección Veg.* 26 (3): 198-199.
- 106.** Matos, G. y Blaha, G. 1989. Estudio Epidemiológico de la enfermedad pudrición negra de las mazorcas del cacao en la región cacaotera de Baracoa. Informe en el CIRAD de Montpellier, Francia. 89 p.
- 107.** Matos, G. y P. Clapé. 2012. Control biológico de *Phytophthora palmivora* en plantaciones de cacao para lograr producciones orgánicas, económicas y sostenibles empleando cepas de *Trichoderma sp.* *Revista Café Cacao* 11(1): 5-7.
- 108.** Matos, Y.; Matos, G. A.; Hubeaux, D. y Decock, C. 2013. Caracterización molecular de *Phytophthora*, agente causal de la pudrición parda del cacao en Cuba. *Rev. Café Cacao* 12 (1): 31 – 34.
- 109.** Matos, Y.; P. Clapé y A. Nariño. 2016. Resistencia a *Phytophthora palmivora* de 48 accesiones de cacao del Banco de Germoplasma de la Estación Experimental Agroforestal Baracoa, Cuba. *Rev. Café Cacao* 15 (2): 28 – 32.
- 110.** Mc Graw H. Metodología de la Investigación. Editorial Félix Varela: La Habana, Cuba; 2007. 987pp.
- 111.** Meinhardt, L. W., J. Rincones, B. A. Bailey, M. C. Aime, G. W. Griffith y D. Zhang. 2008. *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of witches’ broom disease of cacao: what’s new from this old foe? *Molecular Plant Pathology*, 577-588.
- 112.** Mejía L. A. y O. Argüello. 2000. Tecnología para el Mejoramiento de Sistemas de Producción de Cacao. Compiladores. Publicación CORPOICA-Ministerio de Agricultura. Ed. Impresiones Colombianos. Bucaramanga, CO. 2000. p.

113. Mejía, L. C., Rojas, E. I., Maynard, Z., Bael, S. V., Arnold, A. E., Hebbar, P., Herrera, E. A. 2008. Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biological Control*, 46(1), 4-14.
114. Moo F. Amalia, J. C. Alejo, A. Reyes, J. M. Tun, R. Sandoval y J. A. Ramírez. 2014. Actividad *in vitro* del extracto acuoso de *Bonellia flammea* contra hongos fitopatógenos. *Rev. Agrociencia* 48(8): 833-845.
115. Moreno M. E. 1988. Manual para la identificación de hongos en granos y sus derivados México. pp. 9-10.
116. Motamayor J, Lachenaud P, Da Silva J, Loor R, Kuhn D, Brown S, Schnell R. 2008. Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L.). *PLoS ONE*. doi: 10.1371/journal.pone.0003311.
117. Motamayor, JC. 2001. Etude de la diversité génétique et de la domestication des cacaoyers du groupe criollo (*Theobroma cacao* L.) à l'aide de marqueurs moléculaires. Le grade de Docteur en Sciences. Université Paris XI. 177 p.
118. Motamayor, JC; Risterucci, A.M.; Lopez, P.A.; Ortiz, C.F.; Moreno, A; Lanaud, C. 2002. Cacao domestication In: The origin of the cacao cultivated by the Mayas. *Heredity* 89:380– 386.
119. Muñoz, J. 2019. Control de *Phytophthora palmivora* en *Theobroma cacao* L. clon CCN - 51 con fosetil aluminio, hidróxido de cobre y propineb en Satipo. 49 p. Trabajo de Diploma (en opción al Título Profesional de Ingeniero en Ciencias Agrarias - Especialidad: Agronomía). --Universidad Nacional del Centro del Perú – Facultad de Ciencias Agrarias – Satipo – Perú.
120. Nacimiento, R., Stecca, A. y Nevez, V. (2014). Metabolic diversity of *Trichoderma*. *Biotechnology and Biology of Trichoderma*, 363-375.
121. Nariño A., W. Lambertt, M. Menéndez, O. Sánchez, Y. Matos y P. Clapé. 2014. Experiencias del proyecto recuperación, desarrollo y mejoramiento de la producción agroecológica del cacao en el municipio de Baracoa, Cuba. *Revista Café Cacao* 13 (2): 12-17.
122. Ndoumbè-Nkeng M, Cilas C., Nyemb E., Nyasse S., Bieysse D., Flori A., Sache I. 2004. Impact of removing disease pods on cocoa black pod caused by

- Phytophthora megakarya* and on cocoa production in Cameroon. Crop Protection. 23(5):415-424.
123. Noriega-Toledo Daina, L. Hernández-Rodríguez, Yanelis Acebo-Guerrero, Maritza Luis-Pantoja. 2016. Aislamiento y selección de pseudomonas con actividad antagonista *in vitro* ante *Phytophthora nicotianae* y *Phytophthora palmivora*. Rev. CitriFrut 33(1): 12-20.
124. Oficina Nacional de Estadística e Información (ONEI) 2019. Anuario Estadístico Guantánamo 2018. Baracoa. Edición 2019.
125. Ortiz, C. F. 2017. Situación de las plagas del cacao y manejo en México, en presencia de moniliasis. Suplemento de la Revista Mexicana de Fitopatología. 35.
126. Ortiz-García, C. F., Torres-de-la-Cruz, M. y S. Hernández-Mateo. 2015. Comparación de dos sistemas de manejo del cultivo del cacao, en presencia de *Moniliophthora roreri* en México. Revista Fitotecnia Mexicana. 38(2):191-196.
127. Paredes, N. 2009. Manual de cultivo de cacao para la Amazonía ecuatoriana. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Central de la Amazonía DENAREF-Unidad de recursos fitogenéticos. Manual No. 76. INIAP, Quito, Ecuador. 43 pp.
128. Pérez G., C. Chimborazo y J. Freile. 2015. Caracterización in situ de la variabilidad morfológica del cacao (*Theobroma cacao* L.) de la Provincia de Pastaza. Revista Amazónica Ciencia y Tecnología. 4(2): 146-165.
129. Pérez, C. A., G. J. Hernández, y C. J. Fuentes. 2014. Uso de bacterias endófitas como control biológico sobre *Phytophthora cinnamomi* Rands causante de la pudrición radicular del aguacate (*Persea americana* Mill.). Rev. Colombiana cienc. Anim. 6(1):213-222.
130. Pérez, L. 2018. *Moniliophthora roreri* H.C. Evans *et al.* y *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime: impacto, síntomas, diagnóstico, epidemiología y manejo. Rev. Protección Vegetal. 33(1) 1-13.
131. Peter, P. K., y Chandramohan, R. 2014. Integrated management of black pod disease of cocoa caused by *Phytophthora palmivora*. International Journal of Plant Protection, 7(1): 107–110.

132. Phillips, W. y J. Galindo. 1989. Método de inoculación y Evaluación de la resistencia a *Phytophthora palmivora* en frutos de cacao (*Theobroma cacao*). Turrialba 39(4): 488-496.
133. Phillips-Mora, W. y Cerda, 2009. Manual de las plagas del cacao en Centro América. CATIE. Costa Rica.
134. Ploetz RC. 2007. Cacao diseases: Important threats to chocolate production worldwide. *Phytopathology*. 97: 1634-1639.
135. Ploetz RC. 2016. The Impact of Diseases on Cacao Production: A Global Overview. (Chapter 2) Cacao Diseases. © Springer International Publishing Switzerland. Pág. 33-59.
136. Ramírez J. G. 2016. Pérdidas económicas asociadas a la pudrición de la mazorca del cacao causada por *Phytophthora spp.* y *Moniliophthora roreri* (Cif y Par) Evans *et al.*, en la hacienda *Theobroma*, Colombia. *Rev de Prot Veg.* 31(1):42-49.
137. Ramírez, S. 2008. La Moniliasis un desafío para lograr la sostenibilidad del sistema cacao México. *Tecnología en Marcha* 21(1): 97-110.
138. Ramos, E.Y.A., R.I.Z. Navarro, L.E.O. Zumaqué, y J.L.B. Violeth. 2008. Evaluación de sustratos y procesos de fermentación sólida para la producción de esporas de *Trichoderma sp.* *Revista Colombiana de Biotecnología* X(2):23-34. [Links]
139. Ramos, E.Y.A., R.I.Z. Navarro, L.E.O. Zumaqué, y J.L.B. Violeth. 2008. Evaluación de sustratos y procesos de fermentación sólida para la producción de esporas de *Trichoderma sp.* *Revista Colombiana de Biotecnología* X(2):23-34.
140. Raven. P.H., Evert R.F. y Eichhom S. E. 1999. *Biology of plants*. Six Edition. New York. WH freeman and company.944. pp 370. Monografía sobre *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary.
141. Reyes Y., Danay infante y B. Martínez. 2016. Eficacia de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt y Nirenberg para el control de *Rhizoctonia solani* Kühn en condiciones de campo. *Rev. Protección Veg.* 31 (2) 107-113.

142. Reyes-Figueroa, O., Ortiz-García, C. F., Torres-de la Cruz, M., Lagunes-Espinoza, L. C., y Valdovinos-Ponce, G. 2016. *Trichoderma* species from the cacao agroecosystem with biocontrol potential of *Moniliophthora roreri*. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente, 22(2), 149-163.
143. Rivas A., R. Rivas, D. Hinojosa, J.C. Pérez, A. Méndez y M.A. Martínez. 2012. Percepción de productores de tabaco sobre insectos plagas y su manejo en el municipio Jesús Menéndez (Las Tunas). Rev. Protección Veg. 27(1): 19-25
144. Rodríguez G, Gil J, García E. Metodología de la investigación cualitativa. Editorial Félix Varela: La Habana, Cuba; 2008. 245pp.
145. Romero-Cortes, T., P.A. López-Pérez, M. Ramírez-Lepe, y J.A. Cuervo-Parra. 2016. Modelado cinético del micoparasitismo por *Trichoderma harzianum* contra *Cladosporium cladosporioides* aislado de frutos de cacao (*Theobroma cacao*). Chilean Journal of Agricultural and Animal Science, ex Agro-Ciencia 31(3):32-45.
146. Rondón, J. y Cumana, L. 2005. Revisión Taxonómica del género *Theobroma* (Sterculiaceae) en Venezuela. Acta. Bot. Venez. 28(1): 113-133.
147. Rudy, N., H. Smeltkop., J. Almanza. y M. Loza. 2011. Evaluación de la capacidad biocontroladora de cepas nativas de *Trichoderma spp* sobre *Rhizoctonia sp* y *Fusarium sp* en café (*Coffea arabica*) en condiciones experimentales. J Selva Andina Res. Soc. 1 (1): 43-52.
148. Samaniego-Fernández Luz María, Maimouna Harouna, Odalys Corbea, Ana Julia Rondón-Castillo y Iraní Placeres-Espinosa. 2018. Aislamiento, identificación y evaluación de cepas autóctonas de *Trichoderma spp.* antagonistas de patógenos del suelo. Revista de Protección Vegetal, Vol. 33(3):1-11.,
149. Sánchez, P. A y Dubón A. 1994. Establecimiento y Manejo de cacao con Sombra. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CATIE, Turrialba, CR. (Serie Técnica. Manual Técnico no 10. 82 p.)
150. Sandle, T. 2014. *Trichoderma*. p. 644-646. En C.A. Batt y M.-L. Tortorello (eds.) Encyclopedia of Food Microbiology, London, UK. [Links]

151. Sandle, T. 2014. *Trichoderma*. p. 644-646. En C.A. Batt y M.-L. Tortorello (eds.) Encyclopedia of Food Microbiology, London, UK.
152. Santana Y., A. del Busto, Mayra G. Rodríguez, F. L. Rodríguez y D. Maqueira. 2016. Interacción de *Trichoderma harzianum* Rifai y *Azadirachta indica* A. Juss. sobre una población de *Meloidogyne spp.* en plántulas de *Solanum lycopersicum* L. Rev. Protección Veg. Vol. 31 (1): 114-119.
153. Sharma, V., R. Salwan, and P.N. Sharma. 2017. The comparative mechanistic aspects of *Trichoderma* and probiotics: scope for future research. Physiological and Molecular Plant Pathology 100:84-96.
154. Sharma, V., R. Salwan, and P.N. Sharma. 2017. The comparative mechanistic aspects of *Trichoderma* and probiotics: scope for future research. Physiological and Molecular Plant Pathology 100:84-96. [Links]
155. Sims, L.; Tjosvold, S.; Chambers, D.; Garbelotto, M. 2018. Control of *Phytophthora* species in plant stock for habitat restoration through best management practices. Plant Pathology 68: 196-204.
156. Solís J. L., A. Zamarripa, V. Pecina, E. Garrido y E. Hernández. 2015. Evaluación agronómica de híbridos de cacao (*Theobroma cacao* L.) para selección de alto rendimiento y resistencia en campo a moniliasis. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 6(1):71-82
157. Solís, K. y Suárez, C. 2006. Uso de *Trichoderma spp.* para control del complejo Moniliasis Escoba de bruja del cacao en Ecuador. Instituto Ecuatoriano de Investigaciones Agropecuarias- Quevedo, Ecuador. 8 pp.
158. Somarriba, E; Beer, J; Bonneman, A. 1996. Árboles leguminosos y maderables como sombra para cacao: el concepto. CATIE. (Serie Técnica. Informe Técnico 274: 30 - 41).
159. Soria, VJ. 1966. Obtención de clones de cacao por el método de índices de selección. Turrialba 16(2):119-124.
160. Suárez G. 2015. Zonificación edafoclimática de *Theobroma cacao* L. en el macizo montañoso Nipe-Sagua-Baracoa. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias, Instituto de Ciencias Agrícolas, Mayabeque, Cuba.

161. Suárez G. M., F. Soto, E. Garea, O. J. Solano. 2015. Caracterización agroclimática del macizo montañoso Nipe-Sagua-Baracoa, en función de la zonificación agroecológica para el cacao (*Theobroma cacao* L.) Rev. Cultivos Tropicales. 36 (1): 16 – 21.
162. Suárez, G. M.; R. Florido; F. Soto y A. Caballero. 2013. Bases para la zonificación agroecológica en el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.) por medio del criterio de expertos. Cultivos Tropicales: 34(2) 30-37.
163. Tchameni S.N; M.E.L. Ngonkeu; BAD Begoude; N.L. Wakam; R. Fokoma; A.D. Owona; J.B. Mbarga; T. Tchana; P.R. Tondje; F.X. Etoa y J. Kuate. 2011. Effect of *Trichoderma asperellum* and arbuscular mycorrhizal fungi on cacao growth and resistance against black pod disease. Crop Protection. 30: 1321-1327.
164. Terrero, P.I., Sofia Lorena Peñaherrera, Zoila Karina Solís, D. I. Vera, J. B. Navarrete y M. A. Herrera. 2018. Compatibilidad *in vitro* de *Trichoderma spp.* con fungicidas de uso común en cacao (*Theobroma cacao* L.). Rev. Investig. Agrar. 20(2):146-151
165. Tirado-Gallego Paola Andrea, Andrea Lopera-Álvarez y L. A. Ríos-Osorio. 2016. Estrategias de control de *Moniliophthora roreri* y *Moniliophthora perniciosa* en *Theobroma cacao* L.: revisión sistemática. Rev. Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 17(3): 417-430.
166. Toghueo, R. M. K., Eke, P., Zabalgoceazcoa, Í., de Aldana, B. R. V., Nana, L. W., y Boyom, F. F. 2016. Biocontrol and growth enhancement potential of two endophytic *Trichoderma spp.* from *Terminalia catappa* against the causative agent of Common Bean Root Rot (*Fusarium solani*). *Biological Control*, 96, 8-20.
167. Tondje P, Hebbar K, Samuels G, Bowers J, Weise S, Nyemb E, Begoude D, Foko J, Fontem D. 2006. Bioassays of *Geniculosporium* species for *Phytophthora megakarya* biological control on Cacao pod husk pieces. African Journal of Biotechnology 5: 648-652.
168. Torres-De la Cruz, M., C.F. Ortiz-García, C. Bautista-Muñoz, J.A. Ramírez-Pool, N. Ávalos-Contreras, S. Cappello-García, et al. 2015. Diversidad de

- Trichoderma en el agroecosistema cacao del estado de Tabasco, México. Revista Mexicana de Biodiversidad 86:947-961. [Links]
- 169.** Torres-De la Cruz, M., C.F. Ortiz-García, C. Bautista-Muñoz, J.A. Ramírez-Pool, N. Ávalos-Contreras, S. Cappello-García y Aracelis De la Cruz-Pérez. 2015. Diversidad de *Trichoderma* en el agroecosistema cacao del estado de Tabasco, México. Revista Mexicana Biodiversidad 86:947-961.
- 170.** Tuão Gava, C.A; Pinto, J.M. 2016. Biocontrol of melon wilt caused by *Fusarium oxysporum* Schlect f. sp. melonis using seed treatment with *Trichoderma spp.* and liquid compost. Biological control, 97: 13-20.
- 171.** Tuquerres, H.L. 2016. Evaluación de cepas de *Trichoderma spp.* en el control de monilia (*Moniliophthora roreri*), en cacao (*Theobroma cacao*) *in vitro* y en campo en la provincia de Napo-Ecuador. 82p. Trabajo de Diploma (en opción al título de Ingeniería en Biotecnología) — Universidad de las Fuerzas Armadas. Ecuador.
- 172.** Vargas-Hoyos, H.A, y E. Gilchrist-Ramelli. 2015. Producción de enzimas hidrolíticas y actividad antagonica de *Trichoderma asperellum* sobre dos cepas de Fusarium aisladas de cultivos de tomate (*Solanum lycopersicum*) Revista Mexicana de Micología 42:9-16.
- 173.** Vera BJ y Cabanilla, H. 1987. Manual del cultivo de cacao: Rehabilitación del cacao. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Programa Nacional de Cacao. Quevedo, EC. p. 98- 101.
- 174.** Villamil Carvajal J. E.; J. O. Blanco Valbuena y S. E. Viteri Rosero. 2012. Evaluación *in vitro* de Microorganismos Nativos por su Antagonismo contra *Moniliophthora roreri* Cif y Par en Cacao (*Theobroma cacao* L.). Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín 65 (1): 6305-6315.
- 175.** Villamil Carvajal J. E.; S. E. Viteri Rosero y W. L. Villegas Orozco. 2015a. Aplicación de Antagonistas Microbianos para el Control Biológico de *Moniliophthora roreri* Cif y Par en *Theobroma cacao* L. bajo condiciones de campo. Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín 68(1):7441-7450.

- 176.** Villamil, J.; L. Sierra; Y. Olarte; Mosquera, A.; Fajardo, J.; Pinzon, E.; Mosquera, E.; Martínez, J. 2015b. Integración de prácticas culturales y control biológico para el manejo de *Moniliophthora roreri* Cif y Par. Rev. Cienc. Agr. 32(2):13 -25.
- 177.** Yuan, S; Li, M; Fang, Z; Liu, Y; Shi, W; Pan, B; Wu, K; Shi, J; Shen, B; Shen, Q. 2016. Biological control of tobacco bacterial wilt using *Trichoderma harzianum* amended bioorganic fertilizer and the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus mosseae*. Biological control, 92: 164-171.
- 178.** Zeilinger, S., S. Gruber, R. Bansal, and P.K. Mukherjee. 2016. Secondary metabolism in - chemistry meets genomics. Fungal Biology Reviews 30(2):74-90 [Links]
- 179.** Zeilinger, S., S. Gruber, R. Bansal, and P.K. Mukherjee. 2016. Secondary metabolism in – chemistry meets genomics. Fungal Biology Reviews 30(2):74-90.
- 180.** Zentmyer GA, Kaosiri T, Idosu GO, Kellam MK. 1981. Morphological forms of *Phytophthora palmivora*. Ponencia presentada en: VII Conference Internationale sur la Recherche Cacaoyere; Douala, Camerun.
- 181.** Zhang, D., y Motilal, L. 2016. Origin, dispersal, and current global distribution of cacao genetic diversity. En B. A. Bailey, y L. W. Meinhardt (Eds.), Cacao diseases a history of old enemies and new encounters. Nueva York, EE. UU. Springer International.

ANEXOS

Anexo 1. Encuesta aplicada al personal que labora en los sistemas de producción de cacao.

La aplicación exitosa de un programa de Manejo Integrado de Plagas depende en gran medida del conocimiento que posean los actores sociales involucrados en el programa de manejo, de ahí la importancia que le concede el equipo del Proyecto **“Manejo integrado de plagas y enfermedades en los cultivos de café y cacao”** para el control de *Phytophthora palmivora* sobre el cacao en condiciones de campo”, a la información que Usted facilitará a través de la presente **ENCUESTA**.

Muchas gracias de antemano por sus criterios y sugerencias.

1.- Datos generales.

Provincia: _____ Municipio: _____ Localidad: _____

Proyecto: _____ Fecha: _____

2.- Organismo al que pertenece.

MINAG _____ MININT _____

EJT _____ MINFAR _____ ANAP _____

3.- Características del área.

Fase del cultivo: _____ en desarrollo _____ en producción

Número de campos: _____ en desarrollo _____ en producción

Extensión (ha): _____ en desarrollo _____ en producción

Tipo de Suelo _____

Altura sobre el nivel del mar _____

4.- Datos del Encuestado.

Nombre: _____

Forma de producción _____

Cargo o función que desempeña: _____

Sexo: _____ Masculino _____ Femenino

Edad:

De 16 – 30 _____ De 31 – 45 _____

De 46 – 55 _____ Más de 55 _____

Nivel Escolar:

6^{to} grado _____ 9^{no} grado _____

12^{mo} grado _____ Técnico Medio _____

Universitario _____

Antigüedad o experiencia en el trabajo: Menos de 1 año _____

De 1 a 3 años _____

De 4 – 6 años _____

De 7 – 10 años _____

Más de 10 años _____

5.- Características de los cultivos.

a.- Principales cultivos sembrados y plagas asociadas.

Cultivos	Plagas o enfermedades asociadas
Cacao	
Café	
Coco	
Plátano	
Cítricos	

b.- Principales medidas usada para el control de plagas y enfermedades.

Control agrotécnico o cultural _____ Control químico _____

Control etológico _____ Manejo Integrado _____

Control biológico _____ Manejo agroecológico _____

Control físico _____

c.- Agentes de control biológicos utilizados.

Bacillus thuringiensis _____ *Trichogramma* spp. _____

Beauveria bassiana _____ *Chrysopa* spp. _____

Lecanicillium lecanii _____ *Cotororitas* _____

Metarhizium anisopliae _____ Ácaros depredadores _____

Paecilomyces lilacinus _____ Neem _____

Thichoderma spp. _____ Otros _____

7.- Sobre el cultivo del cacao

Principales clones sembrados: _____

Época de siembra: _____ Primavera _____ Invierno

Principales plagas y enfermedades.

Plagas	Enfermedades

8.- Sobre la pudrición negra de la mazorca (*Phytophthora palmivora*)

¿Conoce Usted a la pudrición parda de la mazorca? _____ SI _____ NO

¿Está capacitado para su detección temprana? _____ SI _____ NO

¿Realiza muestreos sistemáticos para su detección? _____ SI _____ NO

¿Conoce la Metodología de señalización de esta especie? _____ SI _____ NO

¿Cómo controla la pudrición negra de la mazorca?:

Qué productos químicos usa con mayor frecuencia.

Producto	Dosis de aplicación	Si	No
Oxicloruro de cobre	0,1-0,25 % ia.		
Zineb	0,2 % ia		
Maneb	2,0- 2,8 kg ia/ha		

Evalúa Usted la efectividad de las aplicaciones. _____ SI _____ NO

Como evalúa el resultado del control químico.

Clasificación	Marcar
Excelente	
Muy bueno	
Bueno	
Regular	
Malo	
No sé	

Usa Usted medios biológicos para el control de P. palmivora? ____ Si ____ NO

Nombre los medios biológicos Utilizados. _____

De donde procede el producto utilizado: _____

9.- Sobre la pudrición negra de la mazorca

¿Conoce Usted a la pudrición negra de la mazorca? ____ SI ____ NO

¿Como la identifica en el campo? _____

10.- Capacitación.

Recibe preparación técnica para el manejo integrado de plagas. ____ SI ____ NO

Quien le proporciona dicha capacitación.

LAPROSAV _____ Universidad _____

ETPP. _____ Empresa _____

CREE _____ Extensionistas _____

Otros. _____ ¿Cuál?

Desea recibir información adicional sobre el control de la pudrición negra de la mazorca . ____ SI ____ NO

La desea recibir a través de:

Materiales impresos: _____ Programas de radio: _____

Conferencias: _____ Programa de televisión: _____

Videos: _____ Otros: ____ ¿Cuál?: _____