

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

Departamento Académico de Ciencias Agrarias



**“EVALUACIÓN DE ALGUNOS NUEVOS CLONES DE CACAO A
LA INOCULACIÓN ARTIFICIAL CON *Moniliophthora roreri* (Cif.
& Par.) Evans *et al.*, EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL DE
TULUMAYO”**

Tesis

Para optar el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

Richard Paredes Espinosa

Tingo María – Perú

2018



T
AGR

Paredes Espinosa, Richard

"Evaluación de algunos nuevos clones de cacao a la inoculación artificial con *Monliophthora rozeri* (Cif. & Par.) Evans *et al.*, en la Estación Experimental de Tulumayo".

73 páginas; 09 cuadros; 04 Figuras; 50 ref.; 30 cm.

Tesis (Ingeniero Agrónomo) Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María (Perú). Facultad de Agronomía.

1. MONILIASIS
2. INOCULACIÓN ARTIFICIAL
3. CACAO
4. RESISTENCIA
5. PATÓGENO



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María
FACULTAD DE AGRONOMÍA



Carretera Central Km 1.21 Telf. (062) 562341 (062) 561138 Fax. (062) 561156 E.mail: fagro@unas.edu.pe

"Año del dialogo y la Reconciliación Nacional"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Nº 014-2018-FA-UNAS

BACHILLER : PAREDES ESPINOSA, Richard

TÍTULO : "Evaluación de algunos nuevos clones de cacao a la inoculación artificial con *Moniliophthora roreri* (Cit & Par-) Evans *et al.*, en la Estación Experimental de Tulumayo "

JURADO CALIFICADOR

PRESIDENTE : Ing. M Sc. Jorge Luis Adriazola Del Aguila
VOCAL : Ing. Oscar Cabezas Huayllas
VOCAL : Ing. M Sc. Gianfranco Egoavil Jump

ASESOR : Dr. Rolando Rios Ruiz

FECHA DE SUSTENTACIÓN : 22 de mayo de 2018

HORA DE SUSTENTACIÓN : 09: 30 a.m.

LUGAR DE SUSTENTACIÓN : SALA DE AUDIOVISUALES DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA

CALIFICATIVO : MUY BUENO

RESULTADO : APROBADO

OBSERVACIONES A LA TESIS : EN HOJA ADJUNTA

TINGO MARÍA, 13 DE JUNIO DE 2018.

.....
Ing. M Sc. Jorge Luis Adriazola Del Aguila
PRESIDENTE

.....
Ing. M Sc. Gianfranco Egoavil Jump
VOCAL

.....
Ing. Oscar Cabezas Huayllas
VOCAL

.....
Dr. Rolando Rios Ruiz
ASESOR

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

Departamento Académico de Ciencias Agrarias



**“EVALUACIÓN DE ALGUNOS NUEVOS CLONES DE CACAO A
LA INOCULACIÓN ARTIFICIAL CON *Moniliophthora roreri* (Cif.
& Par.) Evans *et al.*, EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL DE
TULUMAYO”**

Tesis

Para optar el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

Richard Paredes Espinosa

Tingo María – Perú

2018

DEDICATORIA

Y todo lo que hacéis, sea de palabra o de hecho, hacedlo todo en el nombre del Señor Jesús, dando gracias a Dios Padre por medio de él.

Colosenses 3:17

A mis amados padres Ana María y Ángel por su amor y por la incondicional confianza al apostar por mi formación profesional.

A mi esposa amada Susan Sandra que es mi inspiración día a día y a mi hija Anjali Jandi por significar la esperanza de poder soñar con un mundo mejor.

AGRADECIMIENTO

- A nuestra Alma Mater Universidad Nacional Agraria de la Selva y en especial a la Facultad de Agronomía por permitirme ser parte de una generación de triunfadores y gente productiva para el país.
- A los docentes de la Facultad de Agronomía por transmitirme sus sabias enseñanzas y por los valores inculcados que contribuyeron en mi desarrollo profesional.
- A mi asesor Dr. Rolando A. Ríos Ruíz, por las orientaciones y conocimientos académicos que me proporcionó en la investigación.
- A los miembros del jurado Ing. M. Sc. Jorge Luis Adriazola Del Águila, Ing. M. Sc. Gianfranco Egoavil Jump e Ing. M. Sc. Oscar Esmael Cabezas Huayllas por sus aportes científicos y su acertada colaboración en la corrección del informe de investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	10
II. REVISIÓN DE LITERATURA	13
2.1. El cultivo del cacao.....	13
2.1.1. Origen y distribución.....	13
2.1.2. Taxonomía.....	14
2.1.3. Grupos genéticos del cacao	14
2.2. La moniliasis	15
2.2.1. Nombres comunes de la enfermedad.....	15
2.2.2. Nomenclatura y taxonomía del patógeno	15
2.2.3. Hospederos	16
2.2.4. Distribución geográfica de la enfermedad	16
2.2.5. Importancia económica.....	17
2.2.6. Morfología y fisiología de <i>Monilophthora roreri</i>	19
2.2.7. Ciclo de vida del hongo <i>Monilophthora roreri</i>	19
2.2.8. Sintomatología.....	22
a. Hidrosis	23
b. Madurez prematura.....	23
2.2.9. Proceso de preinfección e infección	24

2.2.10. Fuentes de inóculo y mecanismos de dispersión	25
a. Viento	26
b. Humanos.....	26
c. Insectos.....	27
d. Agua.....	27
2.3. Mejoramiento genético	27
2.4. Evaluación de la resistencia.....	29
III. MATERIALES Y MÉTODOS	32
3.1. Campo experimental	32
3.1.1. Ubicación del ensayo	32
3.1.2. Historia del campo.....	32
3.2. Tratamiento en estudio.....	33
3.3. Instalación y conducción del experimento.....	34
3.3.1. Obtención de los frutos	34
3.3.2. Obtención de inóculo.....	34
3.3.3. Metodología de inoculación.....	34
3.4. Variables evaluadas	35
3.4.1. Porcentaje de incidencia	36
3.4.2. Índice de severidad externa (ISE)	36
3.4.3. Área debajo de la curva de progreso de la enfermedad (ACPE)	37

3.4.4.	Periodo latente medio (PLM).....	38
3.4.5.	Comportamiento de la infección a lo largo del tiempo...	38
3.4.6.	Severidad interna (SI)	38
3.5.	Análisis estadístico.....	39
IV.	RESULTADOS	40
4.1.	Porcentaje de incidencia y área debajo la curva de progreso de la enfermedad (ACPE), evaluadas a la cosecha y décima semana de infección	40
4.2.	Índice de severidad externa (ISE), área debajo de la curva de progreso de la enfermedad (ACPE) y periodo latente medio (PLM), evaluados a la cosecha y décima semana de infección .	44
4.3.	Severidad interna (SI)	49
V.	DISCUSIÓN.....	52
5.1.	Del porcentaje de incidencia, severidad externa e interna y periodo latente medio.....	52
VI.	CONCLUSIONES.....	56
VII.	RECOMENDACIONES.....	57
VIII.	RESUMEN.....	58
	ABSTRAT	60
IX.	BIBLIOGRAFÍA.....	62
X.	ANEXO	70

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
1. Genealogía de los 14 clones en estudio.....	33
2. Escala de evaluación de los síntomas y signos para frutos de cacao inoculados artificialmente con <i>Moniliophthora roreri</i>	36
3. Escala de evaluación del necrosamiento del tejido interno para frutos de cacao inoculados artificialmente con <i>Moniliophthora roreri</i>	38
4. Incidencia de moniliasis en clones de cacao, evaluados a la cosecha y décima semana de inoculación artificial con <i>Monilophthora roreri</i> en la E. E. de Tulumayo – UNAS, Tingo María 2015.....	41
5. Índice de severidad externa (ISE) evaluada a la cosecha y décima semana de la inoculación artificial con <i>Moniliophthora roreri</i> , área debajo de la curva de progreso de la enfermedad (ACPE) y periodo latente medio (PLM), en la E. E. de Tulumayo – UNAS, Tingo María 2015.....	45
6. Porcentaje de frutos de cacao con moniliasis por cada clon, según el grado de severidad externa evaluada a la cosecha y décima semana de la inoculación artificial con <i>Moniliophthora roreri</i> , en la E. E. de Tulumayo – UNAS, Tingo María 2015.	48
7. Severidad interna (SI) evaluada a la cosecha de la inoculación artificial con <i>Moniliophthora roreri</i> , en la E. E. de Tulumayo – UNAS, Tingo María 2015.....	50

8. Porcentaje de frutos de cacao con moniliasis por cada clon, según el grado de severidad interna (SI) evaluada a la cosecha de la inoculación artificial con *Moniliophthora roreri*, en la E. E. de Tulumayo – UNAS, Tingo María 2015. 51
9. Cuadrados medios y coeficiente de variación para la incidencia, severidad externa e interna a la cosecha y décima semana de la inoculación artificial con *Moniliophthora roreri*, en la E. E. de Tulumayo – UNAS, Tingo María 2015. 71

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
1. Curva de progreso de la enfermedad para la incidencia de moniliasis en frutos de cacao para los clones en estudio. (a) Evaluados a la cosecha y (b) décima semana de infección.....	42
2. Curva de progreso de la enfermedad para el índice de severidad externa en frutos de cacao para los clones en estudio. (a) Evaluados a la cosecha y (b) décima semana de infección	47
3. Croquis experimental con ubicación de las 14 accesiones que fueron evaluadas bajo inoculación con <i>Moniliophthora roreri</i> en la E. E. de Tulumayo – UNAS, Tingo María 2015.....	72
4. Panel fotográfico del método de inoculación artificial a frutos de cacao con conidios de <i>Moniliophthora roreri</i> en la E. E. de Tulumayo – UNAS, Tingo María 2015.....	73

I. INTRODUCCIÓN

El árbol del cacao (*Theobroma cacao* L.) es una especie endémica de los bosques húmedos de América tropical, asimismo Cheesman (1944), citado por ADRIAZOLA (2003) indica que probablemente tiene su centro de origen en la Cuenca del Amazonas, región septentrional donde convergen los ríos Putumayo y Napo; específicamente en la zona fronteriza del Brasil y Perú, del Alto Amazonas donde se encontró mayores números de alelos privados en las accesiones estudiadas. Entre tanto, mientras el supuesto centro de origen sigue siendo un tema controversial, el cacao se ha clasificado en 10 complejos genéticos de los cuales el Perú posee la mayor diversidad genética, haciéndose con seis de los diez complejos genéticos de cacao que existe en el mundo (MOTAMAYOR *et al.*, 2008).

Actualmente la producción mundial de grano de cacao registra un notable déficit, según registros de la secretaria de la ICCO. Este valor bordearía 160.000 t en la campaña 2012/2013. Al mismo tiempo, la producción de las Américas parece haber disminuido en casi el 5 % a 618.000 t (ICCO, 2014). Este déficit ilustra el notable incremento durante los años en los mercados maduros de Europa y América del Norte, que son los mayores consumidores (ICCO, 2016). Por otra parte, los cacaocultores notifican situaciones tan graves como la pérdida del 30 a 40 % de la producción debido al ataque de las plagas y enfermedades y a otros factores de poscosecha.

El cacao en el Perú es un cultivo de gran importancia. El MINAGRI (2016), reporto para esta actividad agrícola 85.100 t de grano de cacao, que produjeron 144.200 has de plantaciones de cacao, beneficiando de manera

directa a 90 mil familias, e indirecta a 450 mil personas. Por esta razón se considera en la actualidad como fuente rentable de ingresos para muchas familias productoras.

La demanda creciente aunado a la gran diversidad genética que presenta el Perú, ha resuelto en grandes oportunidades para elevar los ingresos de los cacaocultores, aumentando la superficie plantada y suministrando germoplasmas que resuelvan los problemas del campo, estos materiales tienen que poseer características agronómicas deseables como amplia base genética, resistencia a plagas y enfermedades, de alta productividad y que tengan ventajas comparativas en cuanto a calidad, que atraigan mercados nuevos como es el caso de los finos aromáticos.

La moniliasis se encuentra presente en cinco principales regiones productoras de cacao del Perú, causando pérdidas del 19 % a 100 % de la producción (RÍOS-RUÍZ, 2004). En consecuencia, a estas pérdidas el promedio de la producción nacional se sitúa en 736 kg/ha por año (MINAGRI, 2013); esta situación implica que los agricultores no tienen ingresos aceptables.

La evaluación fitosanitaria de nuevos materiales genéticos debe ser realizado en condiciones de campo, sobre la infección natural, bien como utilizándose inoculaciones artificiales. Estos métodos ya fueron empleados en años anteriores, definiendo algunos clones con resistencia (RIVAS, 1997; RÍOS-RUÍZ, 2004). Se precisa hoy en día que los nuevos materiales producidos en el proyecto CFC/ICCO/BIOVERSITY – UNAS (2004 – 2009), sean sometidas a evaluaciones en cuanto a su reacción a la moniliasis.

Teniendo en cuenta estos aspectos en este estudio se planteó el siguiente objetivo:

1. Evaluar la reacción de algunos nuevos clones de cacao a la inoculación artificial con *Moniliophthora roreri* en la Estación Experimental Agropecuaria de Tulumayo – UNAS.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. El cultivo del cacao

2.1.1. Origen y distribución

MOTAMAYOR *et al.* (2002), sostiene que América del Sur es el centro de origen del *Theobroma cacao* L., información que es apoyada por evidencias moleculares. Sin embargo la localización exacta de este centro de diversidad es originalmente propuesta por Vall Hall (1914) asegurando que la región más probable comprende las cuencas del Orinoco y del Amazonas; posteriormente Cheesman (1944), citado por ADRIAZOLA (2003) considera la región donde discurren los ríos Napo, Putumayo y Caquetá específicamente en la zona del Alto Amazonas que se extiende desde el río Marañón en Perú hasta la frontera con Brasil, donde se encontró el mayor porcentaje de diversidad genética y un nivel elevado de números de alelos privados en las poblaciones estudiadas (MOTAMAYOR *et al.*, 2008).

Cheesman (1944) y Figueira (1944), citado por ADRIAZOLA (2003) señalan que el cacao está distribuido naturalmente en los bosques tropicales húmedos entre las latitudes 18° N y 15° S desde el sureste de México hasta la amazonía. De esta manera, la domesticación del cacao se produjo en América del Sur y luego se extendió hacia América Central y el sur de México, evento que tuvo lugar debido a la migración de los pueblos nativos (MOTAMAYOR *et al.*, 2002). Estos orígenes también fueron cambiando paulatinamente cada vez que los europeos comenzaron a colonizar otros continentes como Asia y África en el siglo XVI, comenzando a cultivar cacao

criollo, Amelonado y Trinitario siendo su ruta de la dispersión de las Américas al viejo mundo.

2.1.2. Taxonomía

El sistema de clasificación APG (del inglés “Angiosperm Phylogeny Group”) presenta cambios importantes a nivel de familias y clados, el *Theobroma cacao*, lo ubican como perteneciente a la familia Malvaceae sensu lato y no dentro de las Sterculiaceae (ALVERSON *et al.*, 1999).

2.1.3. Grupos genéticos del cacao

En la historia de la clasificación intraespecífica de *T. cacao*; Morris, en 1882, fue el primer botánico en diferenciarla en “cultivares”, proponiendo dos grandes grupos: Criollo y Forastero. Posteriormente Cheesman (1944), citado por CHIA (2009), sugirió la siguiente clasificación en cuatro grupos básicos: 1) Criollo centroamericano; 2) Criollo sudamericano; 3) Forasteros amazónicos y Trinitarios.

MOTAMAYOR *et al.* (2008) estudio la estructura y filogenia del *Theobroma cacao*, donde analizaron 1.241 accesiones con marcadores moleculares (marcadores de microsatélite), que fueron recolectados en 12 países de América Latina para la determinación de la diversidad genética. Los resultados del estudio en cuestión, dan a la luz un nuevo planteamiento de la diversidad genética del cacao, clasificándolas en 10 grandes grupos denominados: Marañón, Curaray, Criollo, Iquitos, Nanay, Contamana, Amelonado, Purús, Nacional y Guayana. Estos conglomerados reflejan con mayor precisión la diversidad genética disponible para los fitomejoradores,

siendo esta de mayor utilidad en lugar de la clasificación tradicional como Criollo, Forastero y Trinitario.

2.2. La moniliasis

2.2.1. Nombres comunes de la enfermedad

La moniliasis del cacao es conocida en el mundo con numerosos nombres, que en su mayoría rinden alusión a la sintomatología externa e interna que muestran los frutos: “Pudrición Acuosa”, “Helada”, “Mancha ceniza”, “Mal de nievas”, “Enfermedad de Quevedo” en referencia a su lugar de aparición y “Frosty Pot rot” (EVANS *et al.*, 1978).

2.2.2. Nomenclatura y taxonomía del patógeno

El primer reporte científico del patógeno se hizo en 1917, cuando J. B. Rorer, fitopatólogo de Trinidad visito Ecuador para investigar una enfermedad que estaba reduciendo severamente los rendimientos debido a una enfermedad que causa pudrición de los frutos (EVANS *et al.*, 1978); luego Smith en 1918 identifico como una especie del género *Monilia* (PHILLIPS-MORA, 1986), años más tarde Ciferri y Parodi (1933) confirmaron la identificación provisional hecha por Smith y lo clasificaron como *Monilia roreri* en honor a Rorer que había sido pionero en la investigación sobre la enfermedad (PHILLIPS-MORA, 2003). Posteriormente EVANS *et al.* (1978) propusieron incluir el hongo en el nuevo género *Moniliophthora*, debido a disposición de la conidia joven que no correspondía al género *Monilia*, el cual es acropétala (conidia más joven en la punta) y el hongo en cuestión es

basipétala. Además, las septas de este hongo son de tipo “doliporo” y este es un carácter solo de los basidiomicetes, quedando clasificado como:

Reino:	Fungi
Filo:	Basidiomycota
Clase:	Agaricomycetes
Sub-clase:	Agaricomycetidae
Orden:	Agaricales
Familia:	Marasmiaceae
Género:	<i>Moniliophthora</i>
Especie:	<i>Moniliophthora roreri</i> (Cif. & Par.) Evans <i>et al.</i>

2.2.3. Hospederos

EVANS (1981), manifiesta que en un estudio de rango de hospederos realizados en las colecciones de *Theobroma* y *Herrania* en la Estación Experimental Pichilingue observó susceptibilidad en *T. cacao*, *T. bicolor* (pataste, bacao, macambo, cacau do Perú), *T. grandiflora*, *T. silvestre*, *T. gileri* y *T. grandiflorum* (cupuaçu) utilizado en Brasil para la industria de la confitería, y las especies de *H. balaensis*, *H. nítida*, *H. purpurea* y *H. pulcherrima*.

2.2.4. Distribución geográfica de la enfermedad

El potencial invasivo de *Moniliophthora roreri*, le ha permitido durante los últimos años, colonizar 13 de los 21 países del mundo que cultivan cacao, todos ubicados sobre la franja ecuatorial tropical, a excepción de la región nororiental de Venezuela y Brasil (PLOETZ, 2007), clasificando al hongo como la enfermedad más limitante de la producción de cacao. La continuidad

en su dispersión por casi 200 años, permite pensar en la habilidad para diseminarse y adaptarse a nuevos ecosistemas (MARTÍNEZ, 2015).

La moniliasis apareció a comienzos de siglo en la parte norte de América del Sur. Fue descubierta en Surinam en 1915 y en la provincia Los Ríos (Ecuador) en 1916. En 1978 apareció en Costa Rica en la zona atlántica (PHILLIPS-MORA, 1986). En 1988 fue detectado por primera vez en Perú en las localidades de Bagua Grande, de allí que se ha diseminado por todo el Perú, aunque la región de Madre de Dios es la única zona libre de la presencia de la enfermedad, así como otras zonas fronterizas con el Brasil y Bolivia, pero que corren un peligro eminente de introducción de la enfermedad debido al intercambio comercial presente en la zona (RÍOS-RUÍZ, 2004). También se ha reportado su presencia en otros países productores de cacao como Colombia en 1917, parte de Venezuela en 1941, Panamá 1956, Nicaragua 1980, Honduras 1997, Guatemala en 2002, México (Chiapas – Tabasco) y Belice 2004. Continentes como África, Asia y Oceanía, registran las mayores producciones del grano seco en el mundo (ICCO, 2013) sin embargo aún no reportan la presencia del patógeno.

2.2.5. Importancia económica

Los daños y niveles de pérdidas que puede causar la moniliasis son muy variables y dependen principalmente de las condiciones climáticas (PHILLIPS-MORA, 1986), las cuales tienen relación directa entre la precipitación, la formación de frutos y la incidencia de la enfermedad y del manejo que se haga en las plantaciones (RÍOS-RUÍZ, 2004).

Con la inesperada llegada de la moniliasis a la mayoría de regiones productoras de cacao en el mundo, aunado a la falta de preparación técnica por parte de los cacaocultores, las cosechas se redujeron drásticamente provocando de esta manera el abandono de muchas plantaciones.

En Perú los niveles de pérdidas están en relación con el manejo agronómico que se realiza en los cacaotales, siendo un 90 % en los cacaotales abandonados y 40 % en cacaotales manejados con tecnología intermedia (RÍOS-RUÍZ, 2004); así mismo las estimaciones de incidencia de la enfermedad son muy variables por ejemplo en Ecuador se señala pérdidas estimadas que van desde un 15 % hasta un 80 %, sin embargo Rorer (1926) mencionó pérdidas hasta un 95 % (PHILLIPS-MORA, 1986); en Venezuela, entre el 40 a 50 % de pérdidas totales, de igual manera las pérdidas colombianas indican de un 55 % de la cosecha; en Costa Rica indican que la producción nacional en 1978 fue de 9.551 t/año y debido a la presencia principalmente de la moniliasis se redujo a 2.302 t en 1983. Últimamente en Honduras la producción del cacao en el 1997, antes de la llegada de la moniliasis fue de 4.500 t y en el 2003 por efecto de esta enfermedad la producción tan solo alcanzó 900 t y en México a dos años de su detección, las pérdidas son alrededor del 50 % (VILLAVICENCIO, 2010).

Por lo anterior, sumado a la gran diversidad y adaptabilidad que han mostrado el patógeno y combinado con la longevidad de sus esporas y las condiciones agroclimáticas favorables que ofrecen los países productores, la moniliasis se convierte en un invasor formidable con capacidad de colonizar todos los ecosistemas donde aún no se encuentra (PHILLIPS-MORA, *et al.*, 2005).

2.2.6. Morfología y fisiología de *Moniliophthora roreri*

Meinhardt *et al.* (2014), citados por MARTÍNEZ (2015) argumenta que *Moniliophthora roreri*, es un hongo hemibiótrofo, debido a que posee una etapa biótrofa y una necrotrófica. EVANS *et al.* (1978), mencionan posibles estados anamorfo y teleomorfo del hongo, basados en sus asociaciones como *Crinipellis pernicioso*, ahora llamada *Moniliophthora pernicioso*, sin embargo, recientemente se han reportado evidencias del estado meiótico de las esporas de *Moniliophthora roreri*, proponiendo una fase sexual producto de una división meiótica durante las fase de formación de esporas y germinación, dando lugar a hifas infectivas monocarióticas durante la etapa intercelular y biotrófica, donde seguramente una señal no identificada asociada con la edad del fruto, estimula la transición a la fase diploide necrotrófica del hongo, la cual induce los síntomas de mancha característicos de los frutos de cacao Meinhardt *et al.* (2014), citado por MARTÍNEZ (2015).

EVANS (1981) indica que *Moniliophthora roreri* posee micelio septado con doliporos típicos. Las esporas se producen en cadenas con maduración basipétala y; las esporas son fácilmente removibles, de pared gruesa, color amarillo pálido cuando están inmaduros o café oscuro en su madurez, y pueden ser de forma globosa, elíptica o amorfa, las cuales se presentan en una proporción aproximada al 60 % y 30 % con un diámetro promedio de 9 μm y de 8.6 x 11.8 μm , respectivamente (PHILLIPS-MORA, 2003).

2.2.7. Ciclo de vida del hongo *Moniliophthora roreri*

El hongo empieza su ciclo de vida generalmente en época seca, cuando los frutos esporulados dan inicio a la dispersión de las esporas debido

a corrientes de aire, vibraciones del árbol durante la cosecha o poda. Normalmente no se necesitan abundantes lluvias para que estos inóculos puedan iniciar la infección, tan solo con el rocío de la noche o de madrugada la espora puede tomar el líquido necesario para iniciar este proceso, situación que explica por qué en países con estaciones secas prolongadas el hongo logra mantener su ciclo infeccioso, sin embargo, la incidencia de la moniliasis se incrementa en épocas de lluvias (EVANS, 1981).

Las infecciones son producidas únicamente por los conidios, nunca por el micelio, la germinación se inicia al cabo de dos y se completa entre seis y siete horas después (MERCHÁN, 1981).

El conidio puede lograr a penetrar el interior de los frutos, a mayor presión de inóculo, ocurre una mayor incidencia y severidad del daño (EVANS, 1981). Franco (1958), citado por PHILLIPS-MORA (1986) sostiene que el patógeno no requiere de heridas mecánicas o producidas por insectos para penetrar e infectar las mazorcas, por otro lado, SUÁREZ (1972) menciona que la penetración ocurre directamente a través de la epidermis, especialmente en la base de los pelos glandulares, donde el hongo invade intercelularmente el tejido de la corteza, y produce esporas sobre conidióforos ramificados.

Las mazorcas pueden ser infectadas en cualquier edad, siendo los estados iniciales de su desarrollo los más propensos al ataque del patógeno (BEJARANO, 1961).

La aparición de los primeros síntomas es muy variable, aún en mazorcas de un mismo cultivar inoculados artificialmente en forma simultánea,

dependiendo principalmente de la edad de los frutos, del cultivar, del inóculo y de las condiciones ambientales imperantes (SÁNCHEZ, 1982).

CHAGUA (1997) indica que al inocular frutos a diferentes edades de 30, 60, 90, 120 y 150, los primeros síntomas aparecen entre los 34, 38, 49, 35 y 34 días de la inoculación; así mismo MERCHÁN (1981) observó que, al inocular frutos de 82 a 84 días de edad, los síntomas se presentaron como mínimo a los 15 días y como máximo a los 32 días después de la inoculación, también afirma que en aquellos frutos protegidos con fundas de polietileno, la aparición de los síntomas se aceleró en cinco a seis días. ARÁNZAZU y CUBILLOS (1977) reportaron que, al inocular los frutos de diversas edades, los primeros síntomas aparecen entre los 54 y 78 días después de la inoculación. Por otro lado, SÁNCHEZ (1982) considero que, las lecturas de los síntomas para seguir el desarrollo de la enfermedad, se podían identificar cinco semanas después de la inoculación, puesto que en ese momento solamente del 10 al 15 por ciento de los frutos de 80 días que inoculó presentaban síntomas. Otro autor indica que, en frutos inoculados también a los 80 días, los primeros síntomas aparecían, en promedio, a los 34 días.

A diferencia de la “escoba de bruja”, la moniliasis penetra al fruto joven sin provocar una reacción antagónica, y consecutivamente se desarrolla junto con este, creciendo entre las células del hospedero y frecuentemente estimulando una actividad cambiante que da como resultado protuberancias externas y la compactación interna de los tejidos embrionarios. Esta fase parasítica es altamente evolucionada, durante el cual el hospedero no reconoce al hongo como un intruso. La necrosis interna y la formación de lesiones externas,

son por lo tanto, sumamente rápidos y esto explica él porque es imposible salvar cualquiera de estos frutos aunque aparenten estar sanos debido a que el daño ya está hecho, durante el largo periodo de colonización (EVANS, 1986).

EVANS (1986) menciona que el tiempo transcurrido desde que la espora se pose sobre el fruto para la visible necrosis varia de 45 a 90 días. Mientras tanto en estudios realizados por CHAGUA (1997) encontró que el tiempo transcurrido, desde que la espora es inoculada en el fruto hasta la apreciación de la mancha necrótica oscila entre 76 a 47 días, dependiendo de la edad del fruto.

La aparición del estroma del hongo varía entre 1 a 4 días y la visibilidad de la esporulación entre 2 a 7 días (CHAGUA, 1997); en contraste SOTOMAYOR (1965) menciona que el micelio se observó entre los 3 y 9 días después del primer síntoma de necrosis, y la esporulación entre los 3 y 4 días después del micelio. El periodo vegetativo de la moniliasis es un tema de mucha controversia entre los diferentes estudiosos, que realizan sus ensayos bajos distintos sistemas agroecológicos y con diferentes estructuras poblacionales del patógeno.

2.2.8. Sintomatología

Los frutos son la única parte de la planta del cacao susceptible de ser naturalmente infectado por *Moniliophthora roreri* (EVANS, 1986). La infección inicia en etapas jóvenes del fruto, algunas de estos pueden estar enfermos sin mostrar ningún síntoma externo. AMPUERO (1967) argumenta que los frutos pequeños son más susceptibles a la infección y al crecer expresan cierto nivel de tolerancia; así mismo los frutos que han sido infectados

continúan su crecimiento y paralelamente la enfermedad se desarrolla internamente (BEJARANO, 1961).

Los síntomas de la moniliasis del cacao se pueden clasificar en necrosis e hiperplasia. Los síntomas necróticos se caracterizan por la degeneración del protoplasma, seguida por la muerte (necrosis) de la célula y tejidos. Estos síntomas pueden ser plesionecróticos, cuando se expresan antes de la muerte de los protoplasmas, u holonecrótico, cuando se manifiestan después de ésta (ROBERTS y BOOTHROYD, 1972). Dentro de los síntomas plesionecróticos se encuentran los siguientes:

a. Hidrosis

Comprende los “puntos aceitosos”, y que consiste en la aparición de manchas traslucidas, que corresponde a tejidos infectados, cuyos espacios intercelulares contienen líquidos desprendidos de las células con daños en la membrana del protoplasma. Este síntoma frecuentemente procede al desenvolvimiento de los síntomas holonecróticos (ROBERTS y BOOTHROYD, 1972).

b. Madurez prematura

Esta sintomatología ocurre principalmente durante la primera y tercera semana de edad del fruto (ARÁNZAZU, 1982); la cual resulta de la desintegración de la clorofila que conduce a un marchitamiento del fruto (ROBERTS y BOOTHROYD, 1972), el cual más tarde puede o no formar micelio y esporas en la superficie del mismo (ARÁNZAZU, 1982). Los síntomas holonecróticos que se manifiestan mediante tejidos en los cuales

la necrosis forma una mancha parda, se denominan usualmente como “mancha chocolate” (PHILLIPS-MORA, 2003).

La necrosis interna conduce a la descomposición de los tejidos y de las almendras, lo que ocasiona una podredumbre acuosa dentro de los frutos (CAMPUZANO, 1980). Éstos al perder posteriormente el agua, se secan y arrugan, produciendo los síntomas de “momificación” (PHILLIPS-MORA, 2003).

Las hiperplasias son el resultado del aumento en el número de células de los tejidos, que se manifiestan por medio de tumefacciones. Este síntoma es comúnmente llamado “abultamiento o giba” (PHILLIPS-MORA, 2003).

Los signos del patógeno se producen sobre las manchas pardas, y se caracterizan por un micelio denso y compacto de color blanco denominado estroma. Sobre el estroma aparece posteriormente una gran cantidad de conidios que le dan a la masa micelial, una tonalidad crema o café claro (EVANS, 1981).

2.2.9. Procesos de preinfección e infección

FLORES-MORA (1989) indica que los conidios dispersados por el aire se adhieren a la superficie de la epidermis del fruto, con mayor afinidad a la base de los tricomas glandulares, lo cual puede ser favorecido por mayor acumulación de agua en la base de estas estructuras los conidios germinan directamente a través del poro germinativo o de la pared, emitiendo uno a dos tubos germinativos que se extienden sobre la epidermis. A pesar de la alta densidad de estomas en los frutos de cacao, no se observa penetración a través de estas estructuras; sin embargo, en la mayoría de los casos se registra el crecimiento de tubos germinativos sobre alvéolos de la superficie del

fruto y aparentemente la penetración ocurre directamente a través de la epidermis, lo cual sugiere que la penetración directa es la principal forma de ingreso del patógeno con una tendencia de los tubos germinativos de dirigirse hacia la base de los tricomas glandulares.

SUÁREZ (1972) menciona que posterior a la penetración, hifas gruesas y delgadas crecen intercelularmente bajo de la epidermis y avanzan hasta la capa más profunda del tejido. FLORES-MORA (1989) indica que después el hongo invade inter e intracelularmente tejidos subyacentes causando necrosis; debido a la desintegración del protoplasto celular (ROBERTS y BOOTHROYD, 1972).

Según AMAYA *et al.* (1976), el hongo puede invadir intracelularmente tejidos del exocarpo y mesocarpo, únicamente después que ha colonizado el endocarpo; DESROISER y SUÁREZ (1974) indica que el periodo de incubación desde la penetración hasta la manifestación de los primeros síntomas externos es de 40 a 60 días y cuya forma depende de la edad del fruto al momento de la infección y del cultivar.

2.2.10. Fuente de inóculo y mecanismos de dispersión

Moniliophthora roreri sobrevive en frutos infectados momificados que permanecen en el árbol de cacao después de la cosecha, los que aportan niveles elevados de inóculo durante todo el periodo de fructificación (EVANS, 1981; RÍOS-RUÍZ, 2004); las esporas son los únicos propágulos infectivos del patógeno, y son diseminadas principalmente por el viento. Pueden desprenderse una vez que están secas mediante cualquier estímulo físico (como impactos de gotas de lluvia, corrientes de aire y vibraciones del árbol

durante la cosecha o la poda, etc.) impactando sobre el dosel de los árboles, tronco, cojinetes florales, y se desplazan por distancias considerables mientras no existan importantes barreras naturales (EVANS, 1981). La dispersión a larga distancia ocurre también por actividades humanas al transportar frutos enfermos; varetas y otros tejidos vegetativos infestados (PHILLIPS-MORA, 2003); por otra parte, PORRAS y ENRÍQUEZ (1998) sugieren que vientos fuertes como huracanes y tornados pueden ser agentes importantes de diseminación; además PHILLIPS-MORA (2003) mencionó que diferentes especies de animales han jugado un importante papel en la dispersión de *Moniliophthora rorerii*.

a. Viento

El hongo una vez ha esporulado en el fruto, las masas de esporas son liberadas y transportadas libremente por el viento (PHILLIPS-MORA, 2003); además CAMPUZANO (1976), indica la densidad de esporulación puede alcanzar 44 millones de conidios por cm² y en el fruto maduro puede producir cerca de 7.000 millones de conidios de *M. roreri*, por lo tanto, el patógeno está bien adaptado a este tipo de dispersión; gracias a la pared gruesa de las esporas y a la consistencia polvosa de las masas de éstas (EVANS, 1986).

b. Humanos

Las actividades realizadas por el hombre permiten la diseminación de la enfermedad a grandes distancias, lo cual supera las barreras geográficas. El hombre puede diseminar el hongo al transportar frutos infectados aparentemente sanos, con el fin de usar éstos como semilla para el establecimiento de cultivos o con otros propósitos (EVANS, 1986).

c. Insectos

El transporte de hongos por insectos puede suceder de dos formas, como esporas adheridas en las partes del cuerpo del insecto o en el tracto digestivo de éste llevándolas de un fruto a otro. Sin embargo, este tipo de diseminación ha sido poco estudiado (PHILLIPS-MORA, 2003); pero se presentaron reportes sobre el chinche negro *Antiteuchus tripterus* (Hemíptera: Pentatomidae) que es el principal insecto vector de la enfermedad. Se ha demostrado que su presencia en la plantación aumenta en 100 % el grado de infección desde una planta a otra (MEZA, 1973).

d. Agua

Lluvias torrenciales acompañados de vientos fuertes, sugieren una posible vía de diseminación del hongo a grandes distancias (PORRAS y ENRÍQUEZ, 1998); ya que el agua es considerada como uno de los mecanismos más efectivos en la liberación de pequeñas nubes de esporas (EVANS, 1981).

2.3. Mejoramiento genético del cacao

El mejoramiento genético del cacao a través del fitomejoramiento se ha centrado en aumentar el rendimiento y la resistencia a enfermedades. Para aumentar el rendimiento, los fitomejoradores se han aprovechado de la heterosis que se produce en los cruces entre árboles de diferentes grupos genéticos. Por otro lado, el combate por medio de la resistencia resulta para el agricultor la forma más viable de contrarrestar a la enfermedad y por ende poder reducir los costos de otros métodos de control. El uso de la resistencia en cacao es factible debido a la gran diversidad genética del *Theobroma cacao*,

que incrementa la posibilidad de encontrar material con diversos grados de resistencia (AMPUERO, 1967).

La resistencia a enfermedades en la mayoría de los casos es controlada por los genes, luego que se compara una variedad susceptible con una resistente, es evidente pensar que hay diferencias en lo que respecta a la constitución genética, este cambio altera la actividad del inoculo, puesto que hay diferencias en los procesos fisiológicos, naturaleza estructural, hábito de la planta, entre otros. Un cultivo puede ser tolerante o resistente a las enfermedades, si es tolerante su producción es aceptable, aunque tenga un cierto grado de infección, con otro cultivo que no posea ningún tipo de resistencia, esto reducirá mucho los rendimientos (VANDERPLANK, 1968).

Una de las primeras y de las más importantes fases del mejoramiento para resistencia a enfermedades es la identificación de las fuentes de resistencia. Muchas de las informaciones de mejoramiento de cacao en general y el mejoramiento para resistencia, en especial fueron inicialmente generadas en Trinidad. En ese país, los clones trinitarios ICS fueron primeramente seleccionados por alta producción, pero entre tanto han mostrado alta susceptibilidad en fases posteriores. La búsqueda y selección realizada por Pound de genes de resistencia en la región del Alto Amazonas, en las décadas del 30 y 40 posibilitaron el inicio de un programa de mejoramiento en que los clones Altos Amazónicos fueron cruzados con selecciones locales. Nuevos clones entonces, fueron seleccionados en esas descendencias híbridas. Tal programa funcionó por más de 40 años en Trinidad y resultó en las selecciones altamente productivas de clones de la serie TSH (PAULIN y ESKES, 1995).

2.4. Evaluación de la resistencia

La evaluación de la resistencia en las plantas es realizada directamente, a través de la medición del crecimiento y desarrollo del patógeno. Generalmente se evalúa los síntomas de la enfermedad, admitiéndose que en ello refleja la cantidad de crecimiento del patógeno en el hospedero. Esta evaluación puede ser realizada a través de la determinación de la incidencia y/o severidad de la enfermedad (RIVAS, 1997).

En trabajos efectuados en Tingo María, encontraron que el clon ICS-95, por alcanzar bajos niveles de incidencia de la Moniliasis, al retardar el apareamiento y desarrollo de los síntomas de la enfermedad y presentar menor daño interno de almendras resistiendo a la penetración y pos penetración, se le puede considerar como un clon resistente a la Moniliasis. Por lo tanto, se constituye en un clon promisorio en un programa de mejoramiento genético de resistencia del cacao a *Moniliophthora roreri* (RIVAS, 1997; RÍOS-RUÍZ, 2004), y también es recomendado para siembra por los productores en Perú (RÍOS-RUÍZ, 2004). Este clon ha manifestado ser también tolerante en condiciones de Costa Rica. De hecho, mostró un comportamiento tolerante contra siete cepas de *Moniliophthora roreri* que representaban la diversidad genética del hongo en Latinoamérica (PHILLIPS-MORA *et al.*, 2005).

En estudios de infección natural, PADILLA (2014) sostiene que los clones C-02, S-25, S-08 y S-04 muestran bajos porcentajes de incidencia en cuanto a moniliasis, haciéndose con valores de 3 a 5.9 %, no diferenciándose estadísticamente de los clones S-19, S-13, S-21, C-16, S-17, S-16, S-23, S-09, S-28, S-20, S-22, S-18, S-26, S-27, S-10 y S-24 que mostraron valores de 6.4 a

17.1 % pero sí de los clones S-12 y S-11 que mostraron valores altos de 20.8 y 23% respectivamente.

En estudios de caracterización morfológica y molecular de los recursos genéticos de la Universidad Nacional Agraria de la Selva – UNAS, se incluye nueve árboles promisorios, donde destacan las accesiones SHU-1, SHU-4, SHU-6, SHU-7 y SHU-8 como moderadamente resistentes, SHU-3 y SHU-9 como moderadamente susceptible y la accesión SHU-5 como susceptible. Por su parte la accesión SHU-2 está clasificado como tolerante (GARCÍA, 2009).

SÁNCHEZ y ENRIQUE (1988), calificaron como resistentes o promisorios los clones CC-210, EET-59, CC-266, EET-48, y como muy susceptibles a los clones UF-667, UF-650, UF-4, UF654, P-7 y SGU-69.

RODRÍGUEZ y SUÁREZ (1973), con una concentración de 2.5×10^5 conidios/ml obtuvieron altos porcentajes de infección en la mayoría de los clones inoculados; por lo tanto, señalaron como promisorios los siguientes: EET-223, EET-381, EET-382, EET-387, EET-396 y EET-406.

En registros de infección natural, DELGADO *et al.* (1960) destacaron los clones EET-114, EET-96, EET-306 e ICS-48, algunos por su baja incidencia y otros por sus rendimientos y baja infección. El comportamiento de los distintos materiales varía mucho de un año a otro y de una zona a otra según las condiciones ambientales.

En Costa Rica, fueron realizados estudios para determinar la estabilidad de la tolerancia de algunos clones a *Moniliophthora roreri*, además del afecto de la concentración de inóculo y la edad del fruto sobre la reacción a moniliasis. Frutos de 60 días fueron los más afectados. El inóculo de 10^5 fue lo que

provocó la mayor severidad. El UF-296 y Pound-7 fueron el menos y más afectado respectivamente. Reacciones intermedias fueron UF-29, EET-48, Catongo y EET-400 (PORRAS *et al.*, 1988).

En México, en el Campo Experimental Rosario Izapa del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), se realizan investigaciones de cruzas interclonales, además de evaluar híbridos provenientes de la crusa del clon trinitario UF-273, resistente a Moniliasis, con híbridos H-12, H-13, H-16, H-20 y H-31 de alto rendimiento, así como, cuatro de ellos con cruzas recíprocas. Dentro de los resultados obtenidos, el híbrido H-31 ha destacado como progenitor femenino, debido a que su hibridación permite alcanzar mayores rendimientos de peso fresco, peso seco, e índice de mazorca y semilla, destacándose diez selecciones de híbridos con rendimientos superiores a 1.2 t/ha y 10 % de presencia de moniliasis (HERNÁNDEZ-GÓMEZ *et al.*, 2012).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Campo experimental

3.1.1. Ubicación del ensayo

La evaluación de la resistencia se realizó en el año 2015, para cultivares de cacao en la plantación clonal de la Estación Experimental de Tulumayo (UNAS) establecida a la margen derecha del río Huallaga a 25 km de la ciudad de Tingo María en el centro poblado de Santa Lucía, distrito de José Crespo y Castillo (Aucayacu), Provincia de Leoncio Prado, Región de Huánuco, cuya coordenadas UTM son 0385397 m E, 8990216 m S, altura de 600 msnm. Dentro de la clasificación de Holdridge, el campo experimental está ubicado dentro de la formación vegetal de bosque húmedo subtropical.

El crecimiento y la preparación del inóculo se realizó en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía que se encuentra ubicada en la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

3.1.2. Historia del campo

El campo experimental en estudio fue establecida en abril del 2006 con fines de mejoramiento genético del cacao a través del proyecto “Mejoramiento de la productividad y calidad del cacao: un enfoque participativo CFC/ICCO/BIOVERSITY (2004 – 2009)” en convenio UNAS con Bioversity International, que está basada en accesiones clonales seleccionadas por el investigador, entre clones introducidos por clones locales (Huallaga “H”, Ucayali “U” y Colección “S”) y del agricultor (Colección “C”). Estas accesiones constan de bloques que están representada por 10 árboles para cada clon, plantadas en dos hileras, a un distanciamiento de 3 x 3 metros.

3.2. Tratamientos en estudio

Para el experimento se seleccionó al azar 14 clones de la colección existente, que en la época de su instalación manifestaban flores y frutos más abundantes.

Esta investigación forma parte de un trabajo de experimentación mucho más amplio y, que es conducido por el Dr. Rolando Ríos Ruíz con el objetivo de evaluar todo el material genético del convenio a fin de encontrar materiales promisorios (RÍOS-RUÍZ, 2014).

Los materiales genéticos en estudio constituyen de 14 clones de cacao (*Theobroma cacao* L.), donde 11 son selecciones híbridas clónales “S” y los tres últimos clones son colecciones de agricultores “C” (Cuadro 1).

Cuadro 1. Genealogía de los 14 clones en estudio.

Código	Genealogía
S-01	IAC-1 X U-26,20
S-08	IMC-67 X EET-228,12
S-09	EET-228,12 X UF-613,18
S-11	UF-613 X P-7,8
S-13	U-68 X ICS-6,11
S-15	ICS-39 X U-45,18
S-19	U-12 X U-68,8
S-22	H-12 X ICS-6,6
S-24	H-12 X U-26,13
S-26	U-667 X IMC-67,2
S-28	ICS-39 X U-45,5
C-02	Desconocido
C-03	Desconocido
C-29	Desconocido

Fuente: Selecciones híbridas clónales de la E.E. Tulumayo – UNAS.

3.3. Instalación y conducción del experimento

3.3.1. Obtención de frutos

Los frutos fueron obtenidos de los clones anteriormente mencionados y mediante polinizaciones natural. Los clones estudiados fueron seleccionados por que presentaron un número suficiente de frutos para el ensayo, por lo que se logró en su mayoría un número promedio de 15 a 20 frutos inoculados por clon los cuales fueron bien distribuidos en los árboles.

3.3.2. Obtención del inóculo

Para la inoculación artificial, se recolectaron de la plantación frutos de cacao enfermos por moniliasis con síntomas de mancha parda, los que posteriormente se llevó al laboratorio donde fueron lavados y desinfectados externamente con agua destilada y luego se colocaron en cámara húmeda para inducir a la formación de conidios, posterior a la formación de conidios se colocaron en cámara seca con el fin de facilitar el desprendimiento de los conidios maduros. Estos se recogieron de los frutos por raspado con pincel y mediante golpes suaves y su posterior homogenización en placas petri.

3.3.3. Metodología de inoculación

Se tuvo en cuenta la inoculación de los frutos de aproximadamente 60 a 65 días de edad, momento en que se les inoculo con conidios de *Moniliophthora roreri* a los frutos seleccionados de los híbridos clónales. La inoculación se realizó en la parte superior media del fruto

sostenido en el tallo del árbol, fijando un área circular de 2 cm de diámetro con el fin de depositar allí los conidios del patógeno.

Previo a la inoculación el área seleccionada fue lavada y humedecida con agua destilada. Inmediatamente los conidios adheridos a la cabeza con un alfiler entomológico correspondiente a una cantidad de 3.6×10^4 conidios que fueron depositadas frotando el alfiler sobre el área seleccionada (CÁRDENAS y GIRALDO, 1986).

Posterior a la inoculación los frutos fueron protegidos en una cámara húmeda constituida por una bolsa de polietileno a fin de evitar infecciones naturales, luego se colocó una mota de algodón empapada con agua en el interior de la bolsa, con el propósito de humedecer el ambiente interno, favorecer la germinación y penetración del patógeno. Pasado las 48 horas de la inoculación, las bolsas plásticas fueron perforadas en la parte inferior de manera que no se llene de agua y mantenga el nivel de humedad conveniente, pero ya sin contener la mota de algodón húmeda.

Finalmente se colocó al costado de los frutos con un marcador el código para su fácil identificación y, a la vez se le renovaba las bolsas plásticas a los tratamientos que sufrían algún tipo de daño, ya sea por el clima o por los insectos.

3.4. Variables evaluadas

Las lecturas de las variables evaluadas se realizaron a los siete días después de la inoculación de moniliasis a los frutos tiernos de cacao y se continuaron semanalmente hasta la cosecha de los frutos. Las variables a medir fueron las siguientes:

3.4.1. Porcentaje de incidencia

La incidencia de la moniliasis se calculó de acuerdo a la siguiente formula:

$$\% \text{ Incidencia} = \frac{\text{Frutos totales enfermos}}{\text{Frutos totales evaluados (sanos + enfermos)}} \times 100$$

Después de calcular la incidencia en porcentaje, estos datos fueron transformados a $\text{Arc. Sen}\sqrt{x}$.

3.4.2. Índice de severidad externa (ISE)

El índice de severidad externa se calculó de acuerdo al daño externo que mostró cada fruto y se cuantifico en grados de severidad que fue establecido por BRENES (1983) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Escala de evaluación de síntomas y signos para frutos de cacao inoculados artificialmente con *Moniliophthora roreri*.

Escala de clasificación de síntomas y signos	Grado
Fruto sano	0
Presencia de hidrosis (puntos aceitosos)	1
Presencia de tumefacción y/o amarillez	2
Presencia de mancha parda	3
Presencia de micelio que cubre hasta la ¼ parte de la mancha parda	4
Presencia de micelio que cubre más de la ¼ parte de la mancha parda	5

Determinándose posteriormente el índice de severidad externa (ISE), expresado en:

$$\text{I. S. E.} = \frac{0(n) + 1(n) + \dots + 5(n)}{N}$$

Donde:

0 – 5 = Grados de respectivos.

n = Número de frutos infectados por el grado indicado.

N = Numero de frutos evaluados por repetición.

3.4.3. Área debajo de la curva de progreso de la enfermedad (ACPE)

Los datos promedios semanales en cada una de las lecturas realizadas durante las evaluaciones para la incidencia e intensidad de la severidad externa se dividieron entre el valor de la última evaluación del ataque del patógeno, obteniéndose la proporción acumulativa. Se estimó el área debajo de la curva de progreso de la enfermedad, en las diferentes evaluaciones expresadas en forma acumulativa mediante la fórmula de SHANER y FINEY (1977):

$$\text{ACPE} = \sum_{i=1}^n \frac{(Y(i+1) + Y_i)}{2} (X(i+1) - X_i)$$

Donde:

Y_i = Proporción de la enfermedad en enésima observación.

X = Tiempo (días) en la enésima observación.

n = Número total de observaciones.

3.4.4. Periodo latente medio (PLM)

Evaluada por el tiempo del número de semanas transcurridas desde la inoculación hasta que el 50 % de los frutos inoculados hayan esporulados (RÍOS-RUÍZ, 2004).

3.4.5. Comportamiento de la infección a lo largo del tiempo

Los datos promedios semanales en cada una de las lecturas realizadas durante las evaluaciones para la incidencia e intensidad de la severidad externa se plotaron con el tiempo obteniéndose las curvas de progreso de cada clon.

3.4.6. Severidad interna (SI)

La severidad interna se evaluó en base al porcentaje observado de necrosamiento del tejido interno que mostró cada fruto de cacao y se midió en la escala siguiente que fue propuesta por SÁNCHEZ (1982).

Cuadro 3. Escala de evaluación del necrosamiento del tejido interno para frutos de cacao inoculados artificialmente con *Moniliophthora roreri*.

Porcentaje de área necrosada	Grado
0	0
1 – 20 %	1
21 – 40 %	2
41 – 60 %	3
61 – 80 %	4
> 80 %	5

3.5. Análisis Estadístico

Los datos determinados de incidencia, severidad externa y severidad interna, se procesaron utilizando el análisis de varianza bajo el diseño completamente al azar (DCA) con 14 tratamientos, donde cada clon constituye un tratamiento con diferentes números de repeticiones, donde se realizó el análisis de varianza (F. tab.= 0.05) y se determinó el coeficiente de variabilidad de los ensayos y las variaciones en reacción discriminada haciendo el uso de la prueba de significación estadística de Tukey ($\alpha = 0.05$).

IV. RESULTADOS

4.1. Porcentaje de incidencia y área debajo la curva de progreso de la enfermedad (ACPE), evaluados a la cosecha y décima semana de infección.

La inoculación artificial de *Moniliophthora roreri* produjo altos porcentajes de incidencia en todos los clones en estudio, donde no se encontró diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) entre los promedios para las evaluaciones a la cosecha y décima semana de infección.

En el Cuadro 4, se observa que los porcentajes fluctuaron entre 91.67 % para el clon S-01 y 100 % para los clones S-08, S-09, S-11, S-13, S-15, S-19, S-22, S-24, S-26, S-28, C-02, C-03 y C-29. Es decir, de tales valores porcentuales se puede deducir que todos los clones tienen un comportamiento de susceptibilidad ante la infección de moniliasis.

En la Figura 1, se observa un comportamiento diferencial pero no significativo en cuanto al apareamiento y desarrollo de moniliasis en los frutos evaluados. Por tanto, los clones S-09, S-13, S-15, S-19, S-24, S-26, S-28, C-03, C-02 y C-29 mostraron el inicio del apareamiento de algún síntomas y/o signos a la séptima semana de la inoculación y, dentro de la cual en la primera aparición de daño al fruto constaba con una incidencia del 25 y 30 % para los clones C-02 y C-29 respectivamente, que fueron los más bajos porcentajes de ese grupo.

Cuadro 4. Incidencia de moniliasis en clones de cacao, evaluados a la cosecha y décima semana de la inoculación artificial con *Moniliophthora roreri* en la E. E. de Tulumayo – UNAS, Tingo María 2015.

Clon	Porcentaje de Incidencia			ACPE
	Datos Originales	Datos Transformados		
S-28	100.00	90.00	a	22.63
S-09	100.00	90.00	a	21.70
S-15	100.00	90.00	a	19.37
S-24	100.00	90.00	a	19.00
S-08	100.00	90.00	a	14.50
C-03	100.00	90.00	a	20.13
S-26	100.00	90.00	a	21.70
S-11	100.00	90.00	a	16.20
C-02	100.00	90.00	a	17.50
C-29	100.00	90.00	a	19.06
S-19	100.00	90.00	a	17.82
S-22	100.00	90.00	a	16.33
S-13	100.00	90.00	a	21.50
S-01	91.67	81.61	a	15.82
C.V. (%)		3.55		

Promedios de los tratamientos unidos por la misma letra en la columna, no difieren significativamente entre sí, por la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

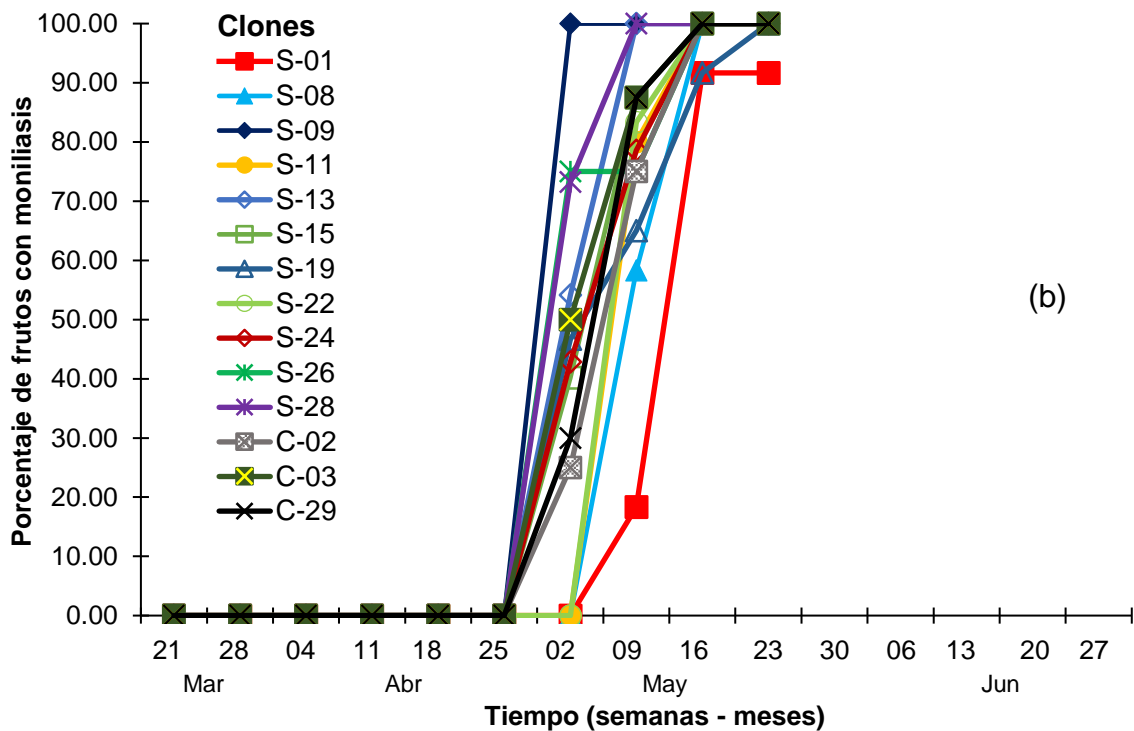
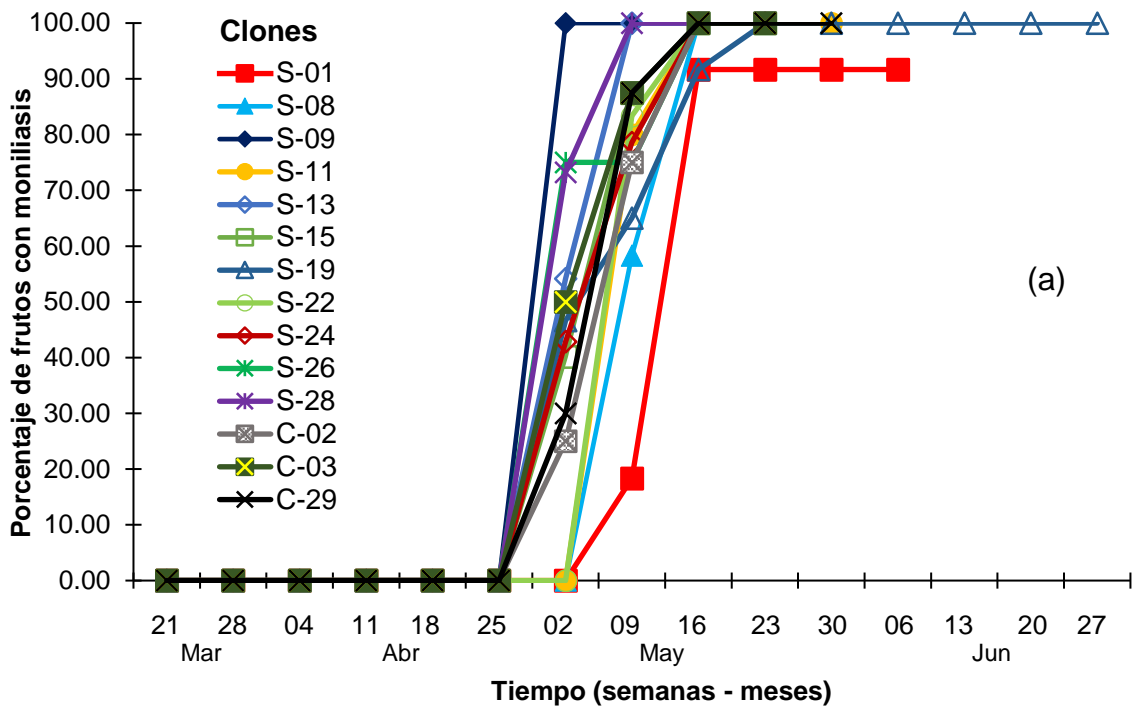


Figura 1. Curva de progreso de la enfermedad para la incidencia de moniliasis en frutos de cacao para los clones en estudio. (a) Evaluados a la cosecha y (b) décima semana de infección.

Así mismo los clones S-13, S-15, S-19, S-24 y C-03 se registraron datos de 54.17, 40.18, 46.67, 42.86 y 50 % de frutos infectados, consignando un avance promedio del patógeno. Seguidamente para los clones S-09, S-26 y S-28 se mostraron porcentajes de 100, 75 y 73.21 respectivamente.

De modo similar los clones S-01, S-08, S-11 y S-22 mostraron algún tipo de síntomas y/o signos de infección por Moniliasis a la octava semana de evaluación. De este grupo la velocidad de infección fue levemente variable, ya que el clon S-01 obtuvo un 18.33 % mientras que los demás clones S-08, S-11 y S-22 registraron 58.33, 80.00 y 83.33 % de frutos afectados por el patógeno.

Los frutos de los clones inoculados con *Moniliophthora roreri*, en las primeras seis y siete semanas permanecieron latentes, teniendo hasta ese momento el 100 % de frutos aparentemente sanos. Sin embargo, para la séptima y octava semana de evaluación, la enfermedad se diseminó rápidamente presentando valores de 37.50 y 77.94 % de incidencia. Así mismo para las evaluaciones a la cosecha y décima semana de la inoculación se registró un incremento de la enfermedad en un 99.26 % (Figura 1).

Para cuantificar Área debajo de la curva de progreso de la enfermedad (ACPE) de los clones estudiados, se utilizó los datos originales de los porcentajes de incidencia de la enfermedad, el cual fue procesado bajo el sistema propuesto por el SHANER y FINEY (1977). De ahí que, los valores registrados para los clones en estudio fluctuaron en los rangos del 14.50 a 22.63 del ACPE, comportándose para este caso como clones muy susceptibles al patógeno.

4.2. Índice de severidad externa (ISE), área debajo de la curva de progreso de la enfermedad (ACPE) y periodo latente medio (PLM), evaluados a la cosecha y décima semana de infección.

En el Cuadro 5, se presenta los promedios de la severidad externa según el número de repeticiones para cada material genético para las pruebas de resistencia a *Moniliophthora roreri* a la cosecha y décima semana de la inoculación, bajo un nivel de significancia de ($\alpha = 0.05$) a fin de evidenciar la secuencia en la expresión de los síntomas y/o signos de la enfermedad.

En las evaluaciones de la severidad externa a la cosecha, se muestra que los frutos de los clones estudiados no difieren significativamente en cuanto a su reacción expresada en índice de severidad externa a moniliasis, comportándose como muy susceptible a la colonización. El clon S-13 mostró la menor severidad externa, que fue de 4.00; le siguió los clones S-22, S-19, C-29 y C-02 que tuvieron valores entre 4.17 a 4.25. Además los clones S-11, S-01, S-26, C-03; S-08, S-24 y S-15 registraron valores de 4.36, 4.55, 4.60, 4.75, 4.86, 4.86 y 4.93 respectivamente, mientras que los clones S-09 y S-28 consignaron los mayores valores de índice de severidad que fueron de 5.00 respectivamente.

De modo similar, las evaluaciones de severidad externa a la décima semana de la inoculación, se muestra que los clones se comportan estadísticamente diferente en cuanto a su reacción expresada en índice de severidad externa a moniliasis. El clon S-19 mostró la menor severidad externa, que fue de 2.64; seguido de los clones S-11 y C-29 que tuvieron valores de 3.64 y 3.67; además los clones S-13, S-01, S-22, C-02, S-26, C-03, S-8, S-24 y

Cuadro 5. Índice de severidad externa (ISE) evaluada a la cosecha y décima semana de la inoculación artificial con *Moniliophthora roreri*, área debajo de la curva de progreso de la enfermedad (ACPE) y periodo latente medio (PLM) en semanas, en la E. E. de Tulumayo – UNAS, Tingo María 2015.

Clones	ISE ^c		Clones	ISE ^d		ACPE	Clones	PLM (Semanas)
S-28	5.00	a	S-28	5.00	a	13.86	S-19	13.50
S-09	5.00	a	S-09	5.00	a	14.36	C-29	10.00
S-15	4.93	a	S-15	4.93	a	12.97	S-11	10.00
S-24	4.86	a	S-24	4.86	a	12.50	S-01	9.50
S-08	4.86	a	S-08	4.86	a	10.60	C-02	9.50
C-03	4.75	a	C-03	4.75	a	12.43	S-28	9.00
S-26	4.60	a	S-26	4.60	a	10.78	S-09	9.00
S-01	4.55	a	C-02	4.25	a b	9.28	S-15	9.00
S-11	4.36	a	S-22	4.17	a b	8.05	S-24	9.00
C-02	4.25	a	S-01	4.00	a b	7.86	S-08	9.00
C-29	4.22	a	S-13	4.00	a b	11.00	C-03	9.00
S-19	4.18	a	C-29	3.67	a b	8.64	S-26	9.00
S-22	4.17	a	S-11	3.64	a b	7.89	S-22	9.00
S-13	4.00	a	S-19	2.64	b	6.66	S-13	9.00
C.V. (%)	18.32			19.47				

Promedios de los tratamientos unidos por la misma letra en la columna, no difieren significativamente entre sí, por la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

ISE^c: Índice de severidad externa a la cosecha.

ISE^d: Índice de severidad externa a la décima semana de infección.

S-15 registraron valores entre 4.00 y 4.93, mientras que los clones S-09 y S-28 consignaron los mayores valores de índice de severidad que fueron de 5.00 respectivamente.

Con los datos procesados del índice de severidad externa (ISE) que fueron registrados semanalmente después de la inoculación artificial con *Moniliophthora roreri*, se graficó la curva de progreso de la enfermedad a través del tiempo y se cuantificó área bajo de la curva de progreso de la enfermedad (ACPE) para clon en estudio. De ahí que, los valores registrados para los clones fluctuaron entre los rangos de 6.66 a 13.86; comportándose para este caso como clones susceptibles al patógeno.

En la Figura 2, se presenta el comportamiento de la moniliasis en valores del índice de severidad externa (ISE) para cada clon evaluado. Estos presentan un comportamiento diferencial en cuanto al apareamiento de cada síntoma y/o signo evaluado (hidrosis, tumefacción y/o amarillez, mancha parda, micelio que cubre hasta la cuarta parte de la mancha parda, micelio que cubre más de la cuarta parte de la mancha parda) sobre el desarrollo del patógeno.

De todos los frutos inoculados, el 99.26 % presentaron síntomas y/o signos externos de la enfermedad. En el Cuadro 6, se puede apreciar que el síntoma y/o signo más frecuente que fue el micelio, la cual se dio en 86.07 y 77.34 % (grados de la escala 5 y 4) de los cuales solo el 13.61 y 14.76 % fueron clasificados en la escala cualitativa de grado 4, para las evaluaciones a la cosecha y décima semana de la inoculación. La tumefacciones y mancha pardas se presentaron una frecuencia inferior del 10.59 y 14.48 % para las evaluaciones a la cosecha y décima semana de la inoculación. Mientras

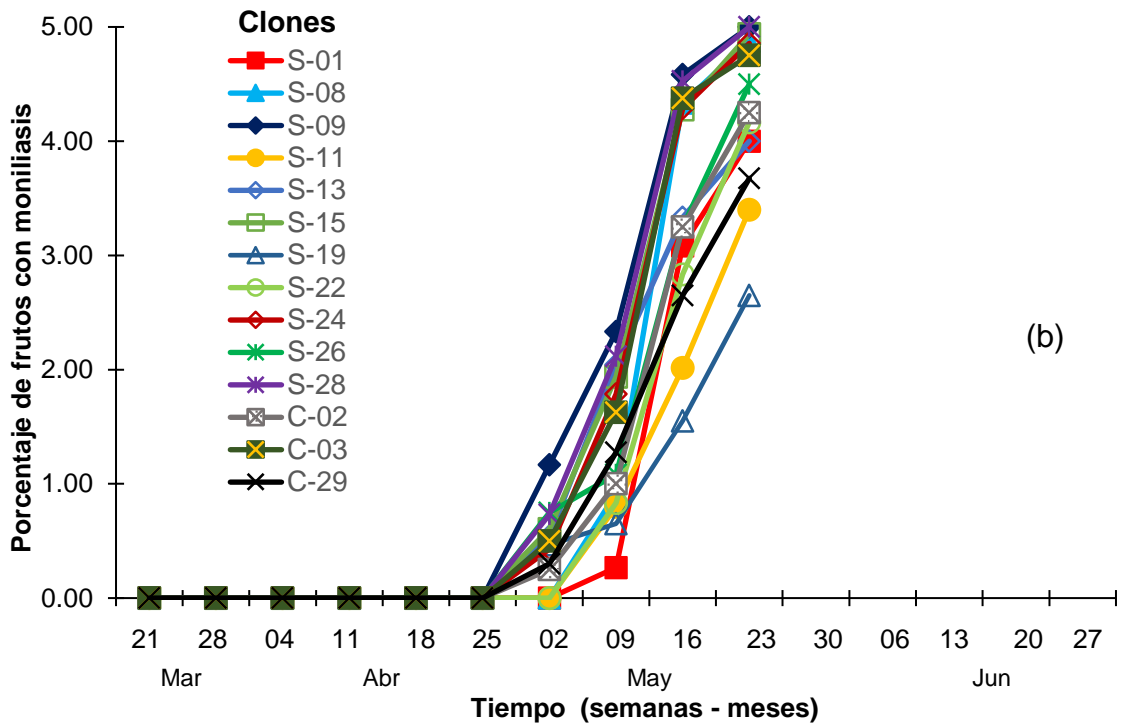
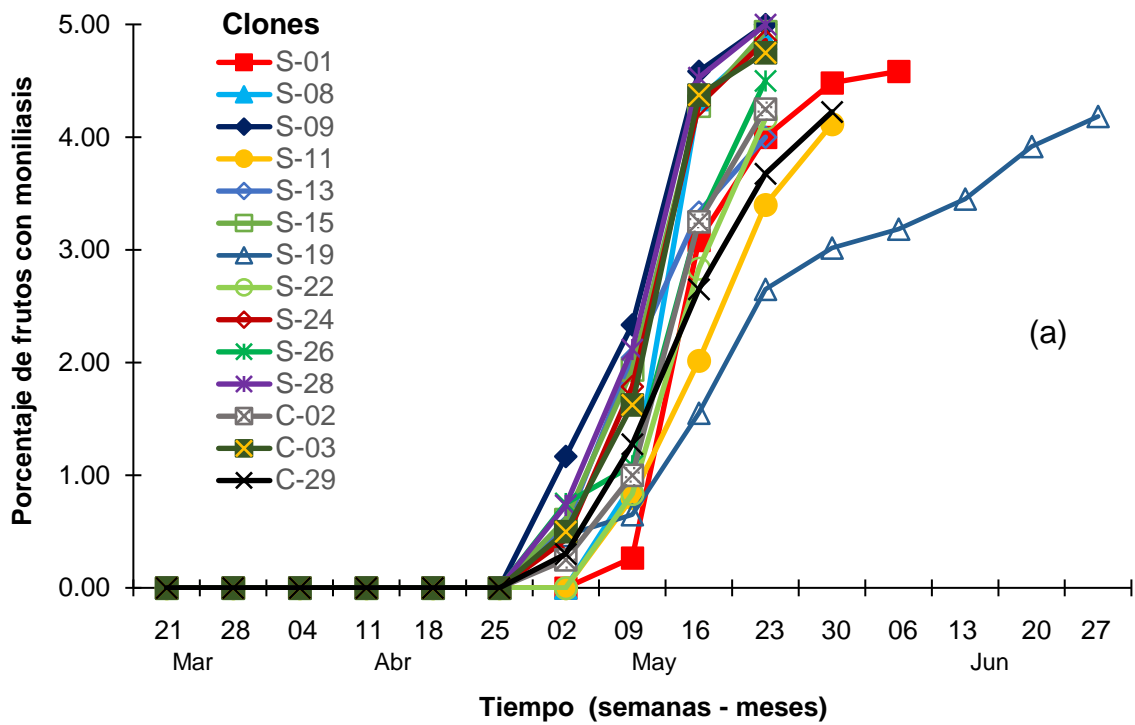


Figura 2. Curva de progreso de la enfermedad para el índice de severidad externa en frutos de cacao para los clones en estudio. (a) Evaluados a la cosecha y (b) décima semana de infección.

Cuadro 6. Porcentaje de frutos de cacao con moniliasis por cada clon, según el grado de severidad externa evaluada a la cosecha y décima semana de la inoculación artificial con *Moniliophthora roreri*, en la E. E. de Tulumayo – UNAS, Tingo María 2015.

Clones	Variable	Grados de la escala / Porcentaje					
		5	4	3	2	1	0
S-28	SE ^c	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	SE ^d	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
S-09	SE ^c	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	SE ^d	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
S-15	SE ^c	93.33	6.67	0.00	0.00	0.00	0.00
	SE ^d	93.33	6.67	0.00	0.00	0.00	0.00
S-24	SE ^c	92.86	0.00	7.14	0.00	0.00	0.00
	SE ^d	92.86	0.00	7.14	0.00	0.00	0.00
S-08	SE ^c	85.71	14.29	0.00	0.00	0.00	0.00
	SE ^d	85.71	14.29	0.00	0.00	0.00	0.00
C-03	SE ^c	87.50	0.00	12.50	0.00	0.00	0.00
	SE ^d	87.50	0.00	12.50	0.00	0.00	0.00
S-26	SE ^c	80.00	0.00	20.00	0.00	0.00	0.00
	SE ^d	80.00	0.00	20.00	0.00	0.00	0.00
S-01	SE ^c	90.91	0.00	0.00	0.00	0.00	9.09
	SE ^d	45.45	36.36	9.09	0.00	0.00	9.09
S-11	SE ^c	45.45	36.36	9.09	0.00	9.09	0.00
	SE ^d	9.09	45.45	27.27	9.09	9.09	0.00
C-02	SE ^c	41.67	41.67	16.67	0.00	0.00	0.00
	SE ^d	41.67	41.67	16.67	0.00	0.00	0.00
C-29	SE ^c	44.44	33.33	22.22	0.00	0.00	0.00
	SE ^d	33.33	22.22	22.22	22.22	0.00	0.00
S-19	SE ^c	45.45	27.27	27.27	0.00	0.00	0.00
	SE ^d	0.00	9.09	54.55	27.27	9.09	0.00
S-22	SE ^c	50.00	16.67	33.33	0.00	0.00	0.00
	SE ^d	50.00	16.67	33.33	0.00	0.00	0.00
S-13	SE ^c	57.14	14.29	0.00	28.57	0.00	0.00
	SE ^d	57.14	14.29	0.00	28.57	0.00	0.00
Promedios	SE ^c	72.46	13.61	10.59	2.04	0.65	0.65
	SE ^d	62.58	14.76	14.48	6.23	1.30	0.65

SE^c: Severidad externa a la cosecha.

SE^d: Severidad externa a la décima semana de infección.

para el síntoma de hidrosis se presentó un mínimo porcentaje de 0.65 y 1.30 para las evaluaciones a la cosecha y a la décima semana.

El micelio cubriendo más de la cuarta parte de la mancha (grado de la escala 5), se presentó mayormente para todos los clones en estudio, registrando para los clones S-28, S-09, S-15, S-24, S-08, C-03 y S-26 valores entre un 80 a 100 %, mientras que el clon C-02 presentó el nivel intermedio que fue de un 41.67 % de frutos infectados para las dos lecturas realizadas. Sin embargo, el clon S-01 en la evaluación a la décima semana mostró un 45.45 % de frutos infectados, a comparación del 90.91 % que se presentó en la evaluación a la cosecha. Además, los clones S-11 y S-19 registraron datos a la cosecha en un 45.45 % y para la décima semana mostró solamente un 9.09 y 0.00 % de frutos infectados con grado 5 respectivamente.

Materiales genéticos como el S-19, los cuales retienen la colonización y esporulación del patógeno serían importantes (Figura 2 (a)). En cuanto a la mancha parda, el más frecuente en presentar este síntoma fue el clon S-22 con registros del 33.33 %. Los clones S-15, S-08, C-02, S-22 y S-13 fueron frecuentes en la aparición de tumefacción y/o amarillez y obtuvieron 6.67, 14.29, 41.67, 16.67 y 14.29 % para las evaluaciones a la cosecha y a la décima semana de la inoculación con moniliasis.

4.3. Severidad interna (SI)

En el Cuadro 7, se muestra que los frutos de los clones en estudio no mostraron diferencia significativa bajo un nivel de significación de ($\alpha = 0.05$) para los promedios del índice de severidad interna, por tanto, estos valores oscilaron entre los rangos de 4.18 y 5.00.

Cuadro 7. Severidad interna (SI) evaluada a la cosecha de la inoculación artificial con *Moniliophthora roreri*, en la E. E. de Tulumayo – UNAS, Tingo María 2015.

Clones	Severidad Interna (SI)	
S-09	5.00	a
S-15	4.93	a
S-28	4.93	a
S-08	4.86	a
S-26	4.80	a
C-02	4.80	a
S-24	4.79	a
C-29	4.78	a
C-03	4.75	a
S-13	4.57	a
S-11	4.55	a
S-19	4.36	a
S-22	4.27	a
S-01	4.18	a
C.V. (%)	15.93	

Promedios de los tratamientos unidos por la misma letra en la columna, no difieren significativamente entre sí, por la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$)

El clon S-09 tuvo un valor de severidad interna de 5.00, mientras que los demás clones como el S-15, S-28, S-08, S-26, C-02, S-24, C-29, C-03, S13, S-11, S-19, S-22 y el S-01 tuvieron promedios que oscilaban entre 4.93 y 4.18; donde resulta que todos los clones evaluados se comportan como los más susceptibles al desarrollo de la moniliasis.

En el Cuadro 8, se muestra los promedios porcentuales la totalidad de los frutos inoculados, donde el 99.35 % presentó síntomas internos de la enfermedad y sólo una mínima parte de los frutos resultaron sanas

internamente al momento de la evaluación. Por consiguiente, los grados de la escala de severidad interna 5 y 4 se presentó mayormente para todos los clones en estudio, registrando promedios de infección en un 73.86 y 17.38 % respectivamente. Además, para los grados 3 y 2 se registró promedios del 7.46 y 0.65 %. Mientras que el grado 1 no se presentó para ninguno de los clones evaluados.

Cuadro 8. Porcentaje de frutos de cacao con moniliasis por cada clon, según el grado de severidad interna (SI) evaluada a la cosecha de la inoculación artificial con *Moniliophthora roreri*, en la E. E. de Tulumayo – UNAS, Tingo María 2015.

Clones	Variable	Grados de la escala / Porcentaje					
		5	4	3	2	1	0
S-09	SI	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
S-15	SI	93.33	6.67	0.00	0.00	0.00	0.00
S-28	SI	93.33	6.67	0.00	0.00	0.00	0.00
S-08	SI	85.71	14.29	0.00	0.00	0.00	0.00
S-26	SI	80.00	20.00	0.00	0.00	0.00	0.00
S-24	SI	85.71	7.14	7.14	0.00	0.00	0.00
C-29	SI	77.78	22.22	0.00	0.00	0.00	0.00
C-03	SI	87.50	0.00	12.50	0.00	0.00	0.00
S-13	SI	57.14	42.86	0.00	0.00	0.00	0.00
S-11	SI	54.55	45.45	0.00	0.00	0.00	0.00
S-19	SI	63.64	18.18	9.09	9.09	0.00	0.00
S-01	SI	63.64	18.18	9.09	0.00	0.00	9.09
S-22	SI	50.00	16.67	33.33	0.00	0.00	0.00
C-02	SI	41.67	25.00	33.33	0.00	0.00	0.00
Promedios	SI	73.86	17.38	7.46	0.65	0.00	0.65

SI: Severidad interna

V. DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio muestran, que no existe diferencias significativas entre los clones de cacao, comportándose como susceptibles a *Moniliophthora roreri*.

Para evaluar la resistencia intrínseca de los clones con características agronómicas de interés, es muy útil disponer de un método de inoculación artificial con *Moniliophthora roreri* (RÍOS-RUÍZ, 2004). En efecto, para este ensayo el uso de esta metodología de inoculación artificial provocó altos porcentajes de incidencia, permitiendo determinar el índice de severidad externa e interna; dado que estas variables son de mayor importancia en cuanto a la clasificación de la reacción del genotipo frente a *Moniliophthora roreri* (PHILLIPS-MORA, 2003). La incidencia, mide la capacidad de resistencia de los cultivares, y permite la efectividad de las inoculaciones. Mientras la severidad externa, es epidemiológicamente importante porque muestra la capacidad que tiene un material de generar inóculo que propicie el desarrollo de la enfermedad (SÁNCHEZ, 1982; RÍOS-RUÍZ, 2004). Así mismo, se considera que la variable de severidad interna, es la que define mejor la capacidad de daño que puede causar el hongo a las almendras (PHILLIPS-MORA *et al.*, 2005).

5.1. Del porcentaje de incidencia, severidad externa e interna y periodo latente medio.

Los valores de incidencia y severidad externa, se obtuvieron mediante las lecturas a la cosecha de los frutos y a la décima semana de la inoculación con *Moniliophthora roreri*, para este estudio. Mientras que los valores registrados

para severidad interna fueron recogidos a la cosecha. Criterio que se tomó en cuenta especialmente por la duración del periodo latente del patógeno. Donde los valores registrados para las tres variables de evaluación de incidencia, severidad externa e interna, no existió diferencia significativa en los clones estudiados. Sin embargo, estos datos muestran luces importantes en cuanto al periodo de incubación y el periodo latente medio.

Respecto a ello BRENES (1983), indica que el periodo de incubación y su correlato el periodo latente puede ser un buen índice para medir la resistencia de un cultivar. En condiciones de campo, la existencia de un periodo largo de incubación sería muy valioso porque se retardaría la epidemia y la producción de esporas. Consecuentemente se podría aumentar el intervalo de las remociones de frutos y entre las eventuales aplicaciones de fungicidas, lo cual reduciría los costos y mejoraría la eficiencia del trabajo. En esta investigación aun cuando el S-19 ha mostrado esta característica, pero al final del ensayo y medido en base al índice de severidad interna el daño a las almendras fue muy alto.

Según SÁNCHEZ (1982), sostiene que la aparición de primeros los síntomas pueden iniciarse a los 15 días de la inoculación y este puede alargarse hasta las diez semanas en algunos cultivares resistentes como el CC-201 y EET-48 en condiciones de Turrialba, Costa Rica.

Por su parte, SÁNCHEZ (1982) indica valores de incidencia, severidad externa y severidad interna para los cultivares CC-266 y Pound-7 al momento de la cosecha en un 31.60 %, 0.88, 2.65 y 95.4 %, 2.84, 3.74 respectivamente; mientras que PHILLIPS-MORA (1986), obtuvo resultados superiores para las

mismas variables y cultivares evaluados a la novena semana, los cuales fueron 74.40 %, 1.82, 2.45 y 100 %, 3.19, 4.74 respectivamente.

BRENES (1983), también encontró diferencias en la severidad interna, donde observó que el cultivar EET-48 cuyo valor fue 2.26 en la evaluación a las ocho semanas y de 1.06 para el trabajo realizado de SÁNCHEZ (1982) que evaluó a las 15 semanas. Esta diferencia sugiere que el desarrollo interno de la enfermedad varía según el cultivar y parecen indicar la existencia de dos tipos de resistencia al hongo, una que evita la penetración y otra que limita su desarrollo dentro del fruto.

En este trabajo donde se inoculó artificialmente moniliasis a frutos de cacao, la incidencia de la enfermedad fluctuó entre un 91.67 % para el S-01 y para los demás clones S-08, S-09; S-11; S-13, S-15; S-19; S-22; S-24, S-26, S-28, C-02, C-03 y C-29 fue del 100 %; datos que muestran un alto grado de susceptibilidad al patógeno. Sin embargo, PADILLA (2014) en su investigación obtuvo datos de incidencia a moniliasis para infección natural por debajo del 16.0 % para los clones S-09, S-28, S-11, S-13, S-24, C-02, S-08, S-19, S-22 y S-26.

Es posible, que los resultados obtenidos por PADILLA (2014), que evaluó en una cosecha y después de una poda fuerte, se deban a los llamados “escapes” de la planta hacia la enfermedad; debido a suministros insuficientes de humedad, incapaces de formar una película de agua sobre las mazorcas por un tiempo suficientemente prolongado que permita el desarrollo normal del hongo; como lo confirma PHILLIPS-MORA (1986) al comparar las incidencias y

severidades del cultivar EET-399, para las evaluaciones con cámara húmeda y sin cámara húmeda, los cuales fueron de 94.70 % y 8.10 % respectivamente.

Al comparar los resultados de incidencia de este ensayo, con respecto a los datos registrados por PADILLA (2014), es comprensible encontrar diferencias, debido a que esta depende de varios factores y principalmente del método de inoculación y evaluación. De estas diferencias, se conduce a pensar que la mejor metodología de evaluación para la obtención de clones promisorios, es la inoculación artificial propuesta por BEJARANO (1961) y consolidada por SÁNCHEZ (1982), BRENES (1983) y otros más recientemente (PHILLIPS-MORA, 2003; RÍOS-RUÍZ, 2004; PHILLIPS-MORA, et al, 2005). Siendo este método que asegura un alto porcentaje de infección en condiciones favorables para el desarrollo del hongo, la cual es una condición necesaria para la evaluación de clones promisorios (PHILLIPS-MORA, 1986), de manera que se evita posibles “escapes” a la infección por moniliasis y posteriormente incurriendo en deducciones errores para la clasificación de un clon promisorio.

Entonces, para los clones estudiados se observó que sucumben a la inoculación de la enfermedad y todos son considerados como susceptibles. Sin embargo, más estudios son necesarios efectuar con toda la colección, como lo viene realizando el Dr. Rolando Ríos Ruíz en su proyecto de investigación que actualmente conduce (RÍOS-RUÍZ, 2014).

VI. CONCLUSIÓN

1. Los clones de cacao S-01, S-08, S-09, S-11, S-15, S-19, S-22, S-24, S-26, S-28, C-02, C-03 y C-29 que fueron probados en este estudio mostraron reacción de susceptibilidad a la inoculación artificial con *Moniliophthora roreri*.
2. La reacción de los clones clasificados como susceptibles, se debe probablemente a que poseen un número reducido de los genes que confieren la resistencia frente a *Moniliophthora roreri*.
3. La predominancia de los clones susceptibles para este estudio, se deben probablemente al método de selección del material que prioritariamente fue orientada a la búsqueda de incremento de producción.
4. Los clones tienden a mostrar un cuadro sintomatológico característico para cada uno de ellos, que incluye o excluye algunos síntomas o signos.

VII. RECOMENDACIONES

1. Para determinar la resistencia de los clones de cacao a *Moniliophthora roreri*, se debe de utilizar la metodología de infección artificial sometiendo a cámara húmeda a los frutos por un determinado espacio de tiempo.
2. Repetir el ensayo con estos y otros clones de toda la colección, a fin de tener datos más conclusivos.
3. Inocular frutos de cacao de diferentes edades, con la finalidad de determinar el periodo crítico del clon frente al patógeno.

VIII. RESUMEN

El estudio, desarrollado el año 2015, tuvo como objetivo evaluar la reacción de algunos nuevos clones de cacao a la inoculación artificial con *Moniliophthora roreri* en la Estación Experimental de Tulumayo (UNAS) ubicada a la margen derecha del río Huallaga a 25 km de la ciudad de Tingo María.

Los materiales genéticos en estudio constituyeron 14 clones de cacao, donde 11 fueron selecciones híbridas clonales "S" y tres clones fueron colecciones de agricultores "C". Frutos de aproximadamente 60 a 65 días de edad fueron inoculados artificialmente con conidios de *Moniliothora roreri*, protegidas por 48 horas con cámara húmeda y evaluados semanalmente la incidencia, índice de severidad externa e índice de severidad interna.

Los resultados mostraron altos porcentajes de incidencia en todos los clones en estudio, donde no se encontró diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) entre los promedios para las evaluaciones a la cosecha y a la décima semana de evaluación. Se observó que los porcentajes fluctuaron entre 91.67 % para el clon S-01 y 100 % para los clones S-08, S-09, S-11, S-13, S-15, S-19, S-22, S-24, S-26, S-28, C-02, C-03 y C-29. Es decir, de tales valores porcentuales se puede deducir que todos los clones tienen un comportamiento de susceptibilidad ante la infección de moniliasis.

En las evaluaciones para la severidad externa a la cosecha, se muestra que los frutos de los clones estudiados no difieren significativamente en cuanto a su reacción expresada en índice de severidad externa a moniliasis, comportándose como muy susceptible a la colonización. Del mismo modo los clones en estudio no mostraron diferencia significativa bajo un nivel de

significación de ($\alpha=0.05$) para los promedios de severidad interna, por tanto, estos valores oscilaron entre los rangos de 4.80 y 5.00. El clon S-09 tuvo un valor de severidad interna de 5.00, mientras que los demás clones como el S-15, S-28, S-08, S-26, C-02, S-24, C-29, C-03, S13, S-11, S-19, S-22 y el S-01 tuvieron promedios que oscilaban entre 4.93 y 4.18; donde resulta que los clones evaluados se comportan como los más susceptibles al desarrollo de la moniliasis.

Los clones S-01, S-08, S-09, S-11, S-13, S-15, S-19, S-22; S-24, S-26, S-28, C-02, C-03 y C-29 que presentaron una alta incidencia, así como también un alto grado en la escala de severidad externa e interna fueron clasificados como susceptibles a *Monilophthora roreri*.

ABSTRACT

The study was carried out in 2015, it had as aim to evaluate the reaction of some new clones of cocoa to the artificial inoculation with *Moniliophthora roreri* at the experimental station of Tulumayo (UNAS) located to the right side of the Huallaga river to 25 km from the city of Tingo Maria.

The genetics materials analyzed formed 14 Clones of cocoa, where 11 were hybrid clonals selections "S" and 3 clones were farmer's collections "C". Fruits of 60 – 65 days of age were inoculated artificially with conidia of *Moniliophthora roreri*, protected by 48 hours with wet camera and evaluated weekly the incidence, external severity index and internal severity index.

The results have shown high percentages of incidence in all the clones in study, where does not found significant differences ($\alpha=0.05$) between the averages for the evaluations at the harvesting and the tenth week of evaluation. It was observed that the percentages ranged between 91.67 % for the clone S -01 y 100 % for the clones S-08, S-09, S-11, S-13, S-15, S-19, S-22, S-24, S-26, S-28, C-02, C-03 y C-29. This means, of each percentages values it can deduce that all the clones have a susceptible behavior to the moniliasis infection.

In the evaluations for the external severity to the harvesting, it showed that the fruit studied do not vary significantly in its reaction showed in external severity index to moniliasis, having a behavior very susceptible to the colonization. Likewise the clones in study do not showed significant differences under a level of signification of ($\alpha=0.05$) for the mean of internal severity, therefore these values were between the ranges of 4.80 and 5.00.

The clon S-09 had a value of internal severity of 5.00, whilst the others clones like S-15, S-28, S-08, S-26, C-02, S-24, C-29, C-03, S-13, S-11, S-19, S-22 y el S-01 had averages that vary between 4.93 and 4.18; where result that the evaluated clones behave as the more susceptible to the moniliasis development.

The clones S-01, S-08, S-09, S-11, S-13, S-15, S-19, S-22; S-24, S-26, S-28, C-02, C-03 y C-29 showed a high incidence, likewise a high grade in the scale of external and internal were classified as susceptible to *Moniliophthora roreri*.

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. ADRIAZOLA, D. J. L. 2003. Producción del Alimento de los Dioses (*Theobroma cacao* L.). Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María, Perú. 81 p.
2. AGRIOS, G. N. 1995. Fitopatología. Trad. del inglés por Guzmán Ortiz, M. 2da Edic. Editorial Limusa. Chapingo, México. D. F., México. 835 p.
3. ALVERSON, W. S., WHITLOCK, B. A., NYFFELER, R., BAYER, C. y BAUM, D. A. 1999. Phylogeny of the core Malvales: Evidence from NDHF sequence data. *Am. J. Bot.* EE.UU. 86(10):1474-1486. [Enlínea]:<http://www.amjbot.org/content/86/10/1474.full.pdf+html>. (Consultado 08 enero 2016).
4. AMPUERO, E. E. 1967. *Monilia* pod rot of cocoa. *Cocoa Grower's Bulletin*. Bournville, Birmingham, UK. 9:15-18.
5. ARÁNZAZU, E. y CUBILLOS, G. 1977. Observaciones sobre el control y sintomatología de *Monilia rozeri* Cif. y Par. En la zona de Urabá, Colombia. *Cacaotero Colombiano* 2:24-25.
6. ARÁNZAZU, H. F. 1982. La Moniliasis del cacao. Tercera Reunión del Comité Consultivo de Sanidad Vegetal. Caracas, Venezuela. 22-26 noviembre de 1982. 32 p.
7. BEJARANO, G. 1961. Métodos de inoculación artificial y factores favorables para la infección de *Monilia rozeri* Cif. & Par. Tesis de Ing. Agrónomo. Universidad Central del Ecuador. Quito, Ecuador. 69 p.
8. BRENES, O. E. 1983. Evaluación de la resistencia a *Monilia rozeri* y su relación con algunas características morfológicas del fruto de

- cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.). Tesis de M. Sc. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 60 p.
9. CAMPUZANO, H. 1980. La moniliasis del cacao. *Cacaotero Colombiano*. 13:21-24.
 10. CAMPUZANO, H. 1976. Fluctuaciones de población de esporas de *Monilia rozeri* Cif. & Par. y su viabilidad durante un ciclo completo de afección. *Noticias Fitopatológicas*. 5:107.
 11. CÁRDENAS, F. C. y GIRALDO, A. J. 1986. Evaluación de la respuesta de algunos cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.) a *Moniliophthora rozeri* mediante dos métodos de inoculación en frutos y en semillas en estado radicular. Tesis de Ing. Agrónomo. Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. 107 p.
 12. CHAGUA, E. S. 1997. Ciclo de la Moniliasis del cacao causado por *Moniliophthora rozeri* (Cif & Par.) Evans et al., en Tingo María. Tesis de Ing. Agrónomo. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María, Perú. 60 p.
 13. CHÍA, W. J. 2009. Caracterización genética y molecular mediante marcadores ISSR de una colección de 50 Árboles clonales e híbridos de cacao (*Theobroma cacao* L.) de la UNAS, Tingo María. Tesis de M. Sc. en Biología Molecular. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. 136 p.
 14. DELGADO, A., AMPUERO, E y DOAK, K. D. 1960. Posibles evidencias de la resistencia a *Monilia rozeri* Cif. & Par. en algunos clones de cacao de la Estación Experimental Tropical Pichilingue. Interamericana

Cocoa Conference 1960. Trinidad y Tobago. 192 p.

15. DESROSIERS, R. y SUÁREZ, C. 1974. *Monilia* pod rot of cacao. In Gregory PH. Ed. *Phytothora* disease of cacao. London, UK. 277 p.
16. EVANS, H. C. 1978. On the Taxonomy of *Monilia roleri* an import pathogen of cacao in South America. *Canadian Journal of Botany*. Canadá. 56(20):2528-2532.
17. EVANS, H. C. 1981. Pod rot of cacao caused by *Moniliophthora roleri*. Commonwealth Mycological Institute. *Phytopathological Papers*. Londres, Inglaterra. Pp. 24, 44.
18. EVANS, H. C. 1986. Ressement of moniliophthora (*Moniliasis*) pod rot of cocoa. *Revista Cocoa Grower's Bulletin*. Bournville, Birmingham, UK. 37: 34-43.
19. FLORES-MORA, D. M. 1989. Estudio ultramicroscópico del proceso de infección de *Moniliophthora roleri* en frutos de cacao. Tesis de M. Sc. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 84 p.
20. GARCÍA, L. F. 2009. Catálogo de cultivares de cacao del Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María, Perú. 110 p.
21. HERNÁNDEZ-GÓMEZ, E., LÓPEZ-NAVARRETE, M. C., GARRIDO-RAMÍREZ E. R., SOLIS-BONILLA, J. L., ZAMARRIPA-COLMENERO, A., AVENDAÑO-ARRAZATE, C. H. y MENDOZA-LÓPEZ, A. 2012. La moniliasis (*Moniliophthora roleri* Cif. & Par.): búsqueda de estrategias de control. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrarias y Pecuarias, México. 6 p.
[En línea]: <https://www.researchgate.net/publication/257066495>.

(Consultado 12 enero 2016)

22. ICCO. 2016. Annual report. London, UK. 72 p. [En línea]: <http://www.icco.org/documents/documents.aspx>. (Consultado 20 junio 2017).
23. ICCO. 2014. Annual report. London, UK. 60 p. [En línea]: <http://www.icco.org/documents/documents.aspx>. (Consultado 02 febrero 2016).
24. MARTÍNEZ, D. H. 2015. Caracterización de cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.) por su respuesta de defensa a *Moniliophthora roreri* y su polimorfismo de SSRs. Tesis de M. Sc. con énfasis en Fitopatología. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agrarias. Bogotá, Colombia. 177 p.
25. MERCHÁN, V. M. 1981. Avances de Investigación de la Moniliasis del cacao en Colombia In, La Moniliasis del cacao. Compendio de trabajos pendientes presentados en el I Seminario sobre la Moniliasis por el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Turrialba, Costa Rica. Pp. 53-69.
26. MEZA, C. 1973. Efecto del Benlate y Cupravit sobre el combate de la moniliasis y mancha de agua del cacao. Revista de la facultad de Agronomía. LUZ. Venezuela. 2(2):87-94.
27. MINISTERIO DE AGRICULTURA. 2016. Sistema Integrado de Estadística Agraria. SIEA. Lima, Perú. 165 p.

28. MINISTERIO DE AGRICULTURA. 2013. Dinámica agropecuaria 2004. Dirección general de seguimiento y evaluaciones políticas. Lima, Perú. 72 p.
29. MOTAMAYOR, J. C., RISTERUCCI, A. M., LÓPEZ, P. A., ORTÍZ, C. F. MORENO, A. y LANAUD, C. 2002. Cacao Domestication I: The origin of the cacao cultivated by the Mayas. *Heredity*. London, UK. 89: 380-386. [En línea]: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12399997>. (Consultado 01 junio 2017).
30. MOTAMAYOR, J. C., LACHENAUD, P., DA SILVA E MOTA, J. W., LOOR, R., KUHN, D. N., BROWN, J. S. y SCHNELL, R. J. 2008. Geographic and genetic population differentiation of the amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L.). *Plos ONE*. EEUU. 3(10): e3311. [En línea]: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.003311>. (Consultado 01 junio 2017).
31. PADILLA, L. C. 2014. Evaluación del comportamiento de 22 clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) a las principales enfermedades en la Ex – Estación Experimental Agropecuaria Tulumayo – Tingo María. Tesis de Ing. Agrónomo. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María, Perú. 142 p.
32. PAULIN, O. y ESKEES, A. B. 1995. Le cacaoyer: strategies de selection. Plantations Recherche Développement. Francia. 2:5-15.
33. PORRAS, V. G, ENRÍQUEZ, L. G. y GALINDO, J. 1988. Determinación de la estabilidad de la tolerancia a *Moniliothora rozeri* en los cultivares

- de cacao en dos zonas de Costa Rica. *Fitopatología*. San José, Costa Rica. 23(2):87-94.
34. PORRAS, V. H. y ENRÍQUEZ, G. 1998. Spread of monilia pod rot of cocoa through Central America. IICA. San José, Costa Rica. 20 p.
35. PHILLIPS-MORA, W; CASTILLO, J; KRAUSS, U; RODRÍGUEZ, E; WILKINSON, MJ. 2005. Evaluation of cacao (*Theobroma cacao*) clones against seven Colombian isolates of *Moniliophthora roreri* from four pathogen genetic groups. *Plant Pathology*. EEUU. 54(3):483-490.
36. PHILLIPS-MORA, W. 2003. Origen, biogeography, genetic diversity and taxonomic affinities of cacao (*Theobroma cacao*) fungus *Moniliophthora roreri* (Cif.) Evans *et al.* as determined using molecular, phytopathological and morphophysiological evidence. Tesis de Dr. Sc. Universidad de Reading Reading. UK. 349 p.
37. PHILLIPS-MORA, W. 1986. Evaluación de la resistencia de cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.) a *Moniliophthora roreri* (Cif. y Par.) Evans *et al.* Tesis de M. Sc. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 119 p.
38. PLOETZ, R. C. 2007. Cacao diseases: Important threats to chocolate production worldwide. *Phytopathology*. Florida, EEUU. 97:1634-1639.
39. RÍOS-RUIZ, R. 2014. Avaliação do desempenho productivo e da resistencia de híbridos e clones de cacauero no Perú. Projeto de pesquisa. Universidad Federal de Viçosa de Minas Gerais, Brasil. 18 p.
40. RÍOS-RUIZ, R. 2004. Epidemiologia e manejo da monilíase do cacauero no Peru. Tesis de Dr. Sc. Minas Gerais, Brasil. Universidad Federal

de Viçosa. 80 p.

41. RIVAS, D. J. 1997. Reacción de algunas clones introducidos de cacao (*Theobroma cacao* L.) a la inoculación artificial de *Moniliophthora roreri* (Cif. Y Par.) Evans *et al.* Tesis de Ing. Agrónomo. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María, Perú. 70 p.
42. ROBERTS, D. A. y BOOTHROYD, C. W. 1972. Fundamentos de patología vegetal. Ed. Acribia, España. 329 p.
43. RODRÍGUEZ, M. y SUÁREZ, C. 1973. Avance de la investigación de la *Monilia roreri* de cacao en el Ecuador. Instituto Nacional Investigación Pecuaria. Guayaquil, Ecuador. 18 p.
44. SÁNCHEZ, J. A. 1982. Reacción de cultivares de cacao a la inoculación artificial con *Monilia roreri*. Tesis de M. Sc. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 55 p.
45. SÁNCHEZ, J. y ENRIQUE, G. 1988. Reacción de algunos cultivares de cacao a la inoculación manual con *Moniliophthora roreri*. Turrialba, Costa Rica. 38(4):317-332.
46. SHANER, G. y FINNEY, R. E. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopatology*. Florida, EEUU. 67:1051-1096.
47. SOTOMAYOR, F. 1965. Estudios preliminares sobre la resistencia de algunos clones de cacao a la moniliasis provocada por la inoculación artificial. Tesis de Ing. Agrónomo. Universidad de Guayaquil. Guayaquil, Ecuador. 56 p.
48. SUÁREZ, C. 1972. Mecanismos de penetración y proceso de infección de

Monilia roreri (Cif. y Par.) en frutos de cacao (*Theobroma cacao* L.)

In, Internacional cocoa Research conference. St. Augustine 4ta.

Trinidad y Tobago, Governmet. Pp. 506-510.

49. VANDERPLANK. 1968. Disease resistance in plant New York. Academic. Press. NY, EEUU. 200 p.

50. VILLAVICENCIO, M. E. 2010. Caracterización morfológica, fisiológica y patogénica de *Moniliophthora roreri* aislados de cinco provincias de la Costa Ecuatoriana. Tesis de Ing. Agrícola y Biológica. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador. 85 p.

X. ANEXOS

Cuadro 9. Cuadrados medios (C.M.) y coeficiente de variación (C.V.) para la incidencia, severidad externa e interna a la cosecha y a la décima semana de la inoculación artificial con *Moniliophthora roreri*, en la E. E. de Tulumayo – UNAS, Tingo María 2015.

Fuente de Variancia	Cuadrados medios				
	Grados de Libertad	Porcentaje de Incidencia	Severidad externa a la cosecha	Severidad externa a décima semana	Severidad interna
Tratamiento	13	10.6	1.34	5.09	0.97
Error	14	9.90	0.70	0.71	0.54
C.V. (%)		3.55	18.32	19.47	15.93

CAMPO DE AMPLIACIÓN DE SELECCIONES CLONALES "S" Y SELECCIONES DE CAMPO DE AGRICULTORES "C"

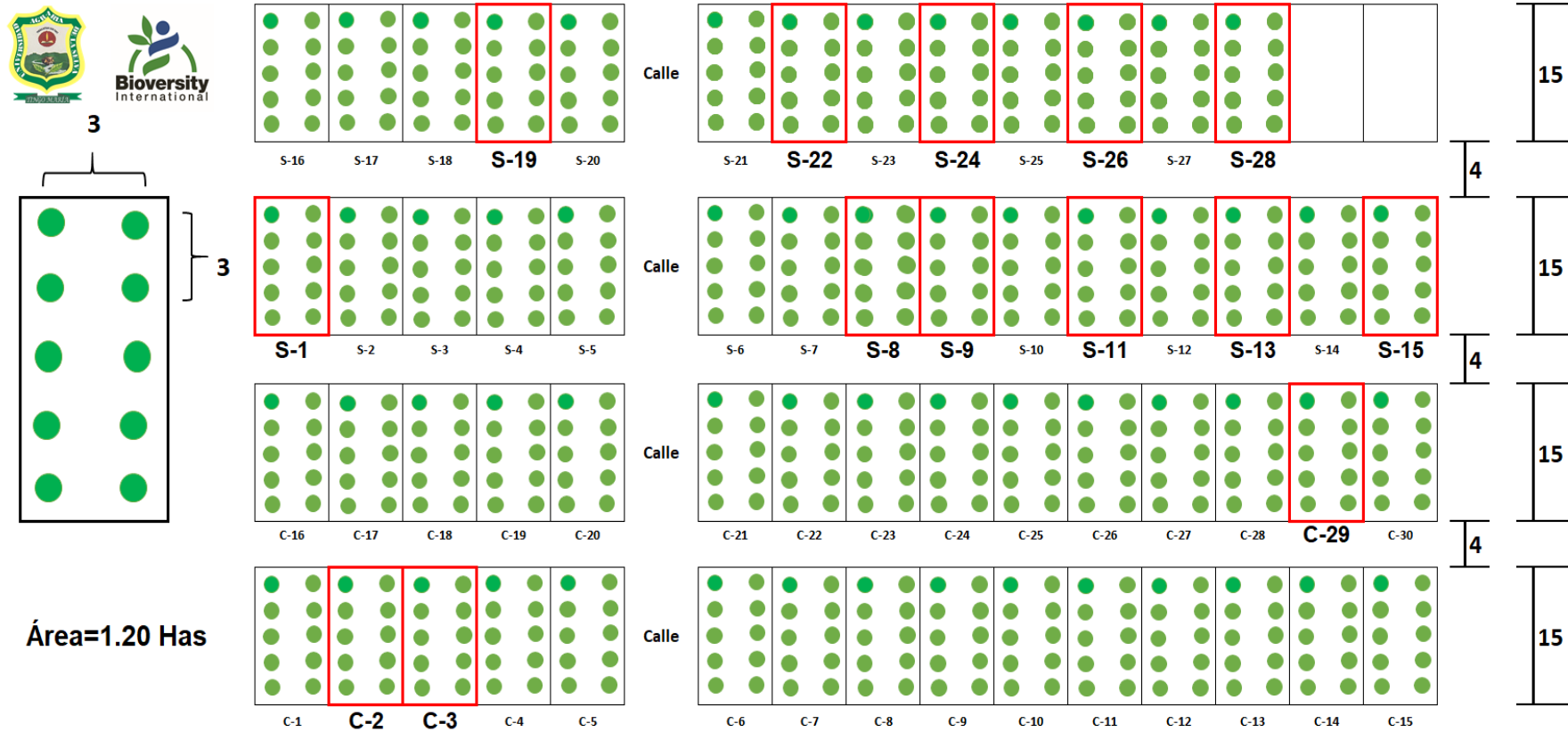


Figura 3. Croquis experimental con ubicación de las 14 accesiones que fueron evaluadas bajo inoculación artificial con *Monilophthora rozeri*, en la E. E. de Tulumayo – UNAS, Tingo María 2015.



Figura 4. Panel fotográfico del método de inoculación artificial a frutos de cacao con conidios de *Moniliophthora roreri*, en la E. E. de Tulumayo – UNAS, Tingo María 2015.