



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS TABASCO

**POSTGRADO EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN
EL TRÓPICO**

**EVALUACIÓN DE FUNGICIDAS SISTÉMICOS Y
DE CONTACTO EN EL CONTROL DE LA
MONILIASIS (*Moniliophthora roreri*) DEL CACAO
(*Theobroma cacao*)**

ISAI QUEVEDO DAMIAN

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE**

MAESTRO EN CIENCIAS

CÁRDENAS, TABASCO; MEXICO

2012

La presente tesis intitulada: EVALUACIÓN DE FUNGICIDAS SISTÉMICOS Y DE CONTACTO EN EL CONTROL DE LA MONILIASIS (*Moniliophthora roreri*) DEL CACAO (*Theobroma cacao*) realizada por el alumno **Isai Quevedo Damián**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS
PRODUCCION AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO**

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



Dr. Carlos Fredy Ortiz García

ASESOR:



Dr. Armando Guerrero Peña

ASESOR:



Dra. Luz del C. Lágunes Espinoza

ASESOR:



Dr. Daniel Nieto Ángel

H. Cárdenas, Tabasco, México, 27 de Julio de 2012

EVALUACIÓN DE FUNGICIDAS SISTÉMICOS Y DE CONTACTO EN EL CONTROL DE LA MONILIASIS (*Moniliophthora roreri*) DEL CACAO (*Theobroma cacao*).

Isai Quevedo Damián, MC.

Colégio de Postgraduados. 2012

RESUMEN

La moniliasis causada por *Moniliophthora roreri*, es una de las enfermedades más destructivas del cacao en América. Afecta exclusivamente al fruto en cualquier etapa de desarrollo, causando pérdidas de hasta el 100% de la producción. Las prácticas culturales han sido el método más aplicado para el combate de la enfermedad, por lo que la selección de fungicidas adecuados contra *M. roreri* que puedan ser incluidos en programas de manejo de la enfermedad. El objetivo de la presente investigación fue evaluar la efectividad *in vitro* de diferentes fungicidas a concentraciones de 250, 500 y 1000 mg L⁻¹ sobre el desarrollo micelial y la germinación conidial de *M. roreri* y seleccionar los que tengan alta efectividad *in vitro* para su prueba en campo. Los productos químicos fueron Azoxystrobin, Tebuconazol, Trifloxystrobin, Tiabendazol, Propiconazol (fungicidas sistémicos) y Clorotalonil (fungicida de contacto). Los fungicidas Trifloxystrobin, Tebuconazol y Propiconazol inhibieron el 100 % la germinación y el desarrollo micelial en las concentraciones evaluadas. El Azoxystrobin inhibió el 100% de la germinación de conidios a partir de 500 mg L⁻¹; sin embargo, solo alcanzó el 80% en la inhibición del desarrollo micelial. Estos fungicidas fueron seleccionados para la prueba en condiciones de campo a 400 y 800 mg L⁻¹. Azoxystrobin, Trifloxystrobin y Tebuconazol a 800 mg L⁻¹, mostraron la mayor efectividad (65 al 70 %) sin haber diferencias significativas entre ellos, sin embargo el valor más alto fue obtenido por el Azoxystrobin.

Palabras claves: control químico, *M. roreri*, efectividad, incidencia, *Theobroma cacao*.

EVALUATION OF SYSTEMIC FUNGICIDES AND OF CONTACT IN THE CONTROL OF THE MONILIASIS (*Moniliophthora roreri*) OF THE COCOA (*Theobroma cocoa*).

ABSTRACT

The moniliasis caused by *Moniliophthora roreri* is one of the most destructive diseases of cacao in America. It applies only to the fruit at any stage of development, causing losses of up to 100% of production. The moniliasis caused by *Moniliophthora roreri*, is one of the most destructive diseases of the cocoa in America. It concerns exclusively the fruit in any stage of development, causing losses of up to 100 % of the production. The cultural practices have been the method most applied for the combat of the disease, for what the selection of fungicides adapted against *M. roreri* that could be included in programs of managing of the disease. The aim of the present investigation was to evaluate the in vitro efficiency of different fungicides to concentrations of 250, 500 and 1000 mg L⁻¹ on the development micelial and the germination conidial of *M. roreri* and to select those who have high in vitro efficiency for his test in field. The chemical products were Azoxystrobin, Tebuconazol, Trifloxystrobin, Tiabendazol, Propiconazol (systemic fungicides) and Clorotalonil (fungicide of contact). The fungicides Trifloxystrobin, Tebuconazol and Propiconazol disabled 100 % the germination and the development micelial in the evaluated concentrations. The Azoxystrobin disabled 100 % of the germination of conidias from 500 mg L⁻¹.; nevertheless, only it reached 80 % in the inhibition of the development micelial. These fungicides were selected for the test in field conditions to 400 and 800 mg L⁻¹. Azoxystrobin, Trifloxystrobin and Tebuconazol to 800 mg L⁻¹., they showed the major efficiency (65 to 70 %) without there being significant differences between they, nevertheless the highest value was obtained by the Azoxystrobin.

Key Words: *chemical control, Frosty pod rot, effectiveness, incident.*

DEDICATORIA

A Dios primeramente porque me ha dado entendimiento, salud, fuerza e inteligencia, por su infinita paciencia, amor y misericordia conmigo. Por haberme cuidado en todo momento le agradezco a Dios.

A mi familia: mi Mamá Elizabeth y a mis hermanos: Ituriel, F. Abdul, Josafat y Luisita.

A la familia Góngora Sánchez y a la Familia Gómez Sánchez

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a México mi país y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) quien me brindó el apoyo financiero para realizar mis estudios de Maestría.

Al Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco, por creer en mí y en mis capacidades y abrir sus puertas para ser parte de mi formación académica.

Al Dr. Carlos Fredy Ortiz García, por la dirección de la tesis.

Al Dr. Armando Guerrero Peña por su amistad, por sus consejos durante mi formación como MC.

A la Dra. Luz del C. Lagunes Espinoza por motivarme a terminar la tesis y por sus asesorías siempre acertadas.

Al Dr. Daniel Nieto Ángel por su asesoría siempre acertada gracias por sus consejos en la tesis que me fueron de muchísima utilidad.

Al Dr. Magdiel Torres de la Cruz por brindarme su amistad, por tenerme paciencia, por su asesoría incondicional durante toda la tesis y por compartir sus conocimientos.

Al Ing. Miguel Custodio Manuel, por facilitar su plantación de cacao para la realización de la investigación.

A mis maestros por sus conocimientos y experiencias que fueron parte de mi formación Doctores: Carlos Fredy, Luz del Carmen, Víctor Córdoba, Jesús Obrador, Mepivoseth, Ángel Galmiche y Saúl Soto, gracias por sus conocimientos.

A mis compañeros de Maestría PROPAT 2009 gracias por los momentos agradables en especial a Lorena Vázquez al trio las papas la hamburguesa y al refresco y a Naranja gracias por su amistad incondicional y los días de Café. Un cafecito?

A Lorena Nataren por su ayuda y su amistad gracias.

A mi mamá y mis hermanos por su amor incondicional y siempre con la promesa de seguir adelante.

A la familia Góngora Sánchez y Sánchez Gómez que son una parte importante en mi vida gracias por su sincera amistad y apoyo incondicional y por todas las molestias que les hice pasar no habrá palabras y suficiente dinero para pagar lo que han hecho por mí. Gracias desde lo más profundo de mi corazón.

Le doy las gracias a Raquel por su amor, cariño y comprensión y a Dios por haberte puesto en mi camino Te Amo.

Gracias a todos no hay palabras para agradecer y como dijo un querido amigo. Porque nunca dejas de ser Colegio.

Esta investigación es parte del proyecto CB-2008-01-106570, denominado: Estudio etiológico, epidemiológico y de formas de control de *Moniliophthora roreri*, agente causal de la moniliasis del cacao, en México, financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), México.

Contenido

| | |
|---|-----|
| RESUMEN | iii |
| ABSTRACT | iv |
| 1.- INTRODUCCIÓN | 1 |
| OBJETIVO GENERAL | 3 |
| 1.1 Objetivos específicos: | 3 |
| 1.2 Hipótesis | 3 |
| 2.- REVISIÓN DE LITERATURA..... | 4 |
| 2.1. El cacao | 4 |
| 2.1.1. Situación mundial y nacional del Cacao..... | 4 |
| 2.1.2. Pérdidas de cacao por <i>Moniliophthora roreri</i> | 5 |
| 2.2. Síntomas ocasionados por <i>M. roreri</i> | 6 |
| 2.3. Taxonomía y morfología de <i>M. roreri</i> | 9 |
| 2.4. Ciclo de vida de <i>M. roreri</i> | 10 |
| 2.4.1. Procesos de preinfección e infección..... | 11 |
| 2.4.2. Fuente de inóculo y mecanismos de dispersión..... | 11 |
| 2.5. Control de la moniliasis. | 12 |
| 2.5.1. Control químico de <i>M. roreri</i> | 14 |
| 2.6. Uso de fungicidas en el control de fitopatógenos | 15 |
| 2.6.1. Clasificación de fungicidas | 16 |
| 2.7. Estrobilurinas | 19 |
| 2.7.1. Uso del Azoxystrobin en el control de fitopatógenos..... | 20 |
| 2.7.2. Trifloxystrobin en el control de fitopatógenos..... | 21 |
| 2.8. Triazoles..... | 22 |
| 2.8.1. Uso del Tebuconazol en el control de fitopatógenos | 23 |

| | |
|---|-----------|
| 2.8.2. Propiconazol en el control de fitopatógenos | 24 |
| 2.9. Benzimidazoles | 24 |
| 2.9.1. Uso del Tiabendazol en el control de fitopatógenos | 25 |
| 2.10. Clorotalonil en el control de fitopatógenos..... | 25 |
| 2.11. Resistencia de los patógenos a los fungicidas..... | 26 |
| 2.11.1 Tipos de resistencia..... | 26 |
| 2.11.2. Resistencia de hongos a fungicidas sistémicos | 27 |
| 2.11.3. Estrategias anti-resistencia..... | 29 |
| 3.- MATERIALES Y MÉTODOS..... | 30 |
| Aislamiento e identificación de <i>M. rozeri</i> | 30 |
| Evaluación <i>in vitro</i> de fungicidas sobre el desarrollo micelial y la germinación conidial de <i>M. rozeri</i> | 30 |
| Germinación conidial..... | 32 |
| Desarrollo micelial..... | 32 |
| Efectividad en campo de fungicidas en el control de la moniliasis del cacao. . | 33 |
| Instalación y manejo de las parcelas experimentales..... | 33 |
| Diseño experimental y Análisis de datos | 34 |
| 4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 35 |
| Aislamiento..... | 35 |
| Efectividad <i>in vitro</i> de fungicidas sistémicos y de contacto sobre la germinación de conidios y crecimiento micelial en <i>M. rozeri</i> | 36 |
| Efectividad <i>in vivo</i> de fungicidas en el control de la moniliasis del cacao, en una plantación con alta incidencia. | 44 |
| Efectividad <i>in vivo</i> de fungicidas en el control de la moniliasis del cacao, en una plantación con baja incidencia. | 47 |

| | |
|--|----|
| Análisis general de la efectividad de fungicidas sobre la moniliasis del cacao en un sistema de baja incidencia..... | 50 |
| Discusión general..... | 51 |
| 6.- CONCLUSIÓN..... | 53 |
| 7.- LITERATURA CITADA | 55 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | |
|---|----|
| Cuadro 1. Tipos de fungicidas por su nivel de toxicidad..... | 16 |
| Cuadro 2. Tipos de fungicidas por su naturaleza química, momento de aplicación y sitio de aplicación. | 17 |
| Cuadro 3. Tipos de fungicidas por su modo de acción a nivel hospedante y patógeno..... | 18 |
| Cuadro 4. Fungicidas y su riesgo de resistencia. | 27 |
| Cuadro 5. Fungicidas evaluados para el control de Moniliasis del cacao | 31 |
| Cuadro 6. Efecto del Clorotalonil sobre la germinación de conidios y el desarrollo micelial de <i>M. roleri in vitro</i> | 36 |
| Cuadro 7. Efecto del Tiabendazol sobre la germinación de conidios y el desarrollo micelial <i>in vitro</i> de <i>M. roleri</i> | 38 |
| Cuadro 8. Efecto del Azoxystrobin sobre la germinación de conidios y el desarrollo micelial <i>in vitro</i> de <i>M. roleri</i> | 39 |
| Cuadro 9. Efecto del Trifloxystrobin sobre la germinación de conidios y el desarrollo micelial <i>in vitro</i> de <i>M. roleri</i> | 40 |
| Cuadro 10. Efecto del Propiconazol sobre la germinación de conidios y el desarrollo micelial <i>in vitro</i> de <i>M. roleri</i> | 42 |
| Cuadro11. Efecto del Tebuconazol sobre la germinación de conidios y el desarrollo micelial <i>in vitro</i> de <i>M. roleri</i> | 43 |
| Cuadro 12. Efecto del Azoxystrobin <i>in vivo</i> sobre la moniliasis del cacao, en una plantación con alta incidencia. | 44 |
| Cuadro 13. Efecto del Trifloxystrobin <i>in vivo</i> sobre la moniliasis del cacao, en una zona de alta de incidencia. | 45 |
| Cuadro 14. Efecto del Tebuconazol, <i>in vivo</i> , sobre la moniliasis del cacao, en una Plantación con alta de incidencia. | 45 |
| Cuadro 15. Efecto del Propiconazol <i>in vivo</i> sobre la moniliasis del cacao, en una plantación con alta de incidencia. | 46 |
| Cuadro 16. Efectividad <i>in vivo</i> de fungicidas sistémicos sobre la moniliasis del cacao en una zona con alta incidencia. | 47 |

| | |
|--|----|
| Cuadro 17. Efecto del Azoxystrobin in vivo sobre la moniliasis del cacao, en una plantación con baja incidencia. | 48 |
| Cuadro 18. Efecto del Trifloxystrobin in vivo sobre la moniliasis del cacao, en una plantación con baja incidencia. | 48 |
| Cuadro 19. Efecto del Tebuconazol in vivo sobre la moniliasis del cacao, en una zona de baja de incidencia. | 49 |
| Cuadro 20. Efecto del Propiconazol in vivo sobre la moniliasis del cacao, en una plantación de baja incidencia. | 49 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Producción mundial de cacao en grano por país en 2009. | 5 |
| Figura 2. Síntomas Internos causados por la <i>Moniliophthora roreri</i> en Frutos de cacao. a) Frutos infectados en etapa de chilillo muestran fallas en el número y desarrollo de los granos. b) frutos infectados de tres meses de edad con necrosis de color marrón rojizo que afecta las semillas. c) Frutos con infecciones avanzadas, los carpelos, la pulpa y granos se vuelven una masa compacta y acuosa..... | 8 |
| Figura 3. Síntomas Externos causados por la <i>Moniliophthora roreri</i> en Frutos de cacao. a) presencia de deformaciones llamadas jibas. b) puntos aceitosos. c) fruto con maduración fisiológica y mancha irregular color café. d) micelio en etapa inicial en mancha color café. e) micelio en etapa avanzada en sobre el fruto f) fruto momificado con micelio..... | 8 |
| Figura 4. Estructuras morfológicas de <i>Moniliophthora roreri</i> mostrando micelio septado y esporas con pared gruesa (Evans, 1981)..... | 10 |
| Figura 5. Frutos etiquetados en campo: A) Tratamiento Propiconazol. B) Testigo | 34 |
| Figura 6. a) Colonia de <i>M. roreri</i> en medio V8 clarificado. b) Conidios de <i>M. roreri</i> | 35 |
| Figura 7. Efecto del Clorotalonil sobre el desarrollo micelial in vitro de <i>M. roreri</i> . a) Testigo b) Clorotalonil 250 mg L ⁻¹ c) Clorotalonil 500 mg L ⁻¹ c) Clorotalonil 1000 mg L ⁻¹ | 37 |
| Figura 8. Efecto del Tiabendazol sobre el desarrollo micelial in vitro de <i>M. roreri</i> . a) Testigo b) Tiabendazol 250 mg L ⁻¹ c) Tiabendazol 500 mg L ⁻¹ d) Tiabendazol 1000 mg L ⁻¹ | 38 |
| Figura 9. Efecto del Azoxystrobin sobre el desarrollo micelial <i>in vitro</i> de <i>M. roreri</i> . a) Testigo b) Azoxystrobin 250 mg L ⁻¹ c) Azoxystrobin 500 mg L ⁻¹ d) Azoxystrobin 1000 mg L ⁻¹ | 40 |
| Figura 10. Efecto del Trifloxystrobin sobre el desarrollo micelial <i>in vitro</i> de <i>M.</i> | |

roreri. a) Testigo b) Trifloxystrobin 250 mg L⁻¹ c) Trifloxystrobin 500 mg L⁻¹ d) Trifloxystrobin 1000 mg L⁻¹ 41

Figura 11. Efecto del Propiconazol sobre el desarrollo micelial *in vitro* de *M. roreri*. a) Testigo b) Propiconazol 250 mg L⁻¹ c) Propiconazol 500 mg L⁻¹ d) Propiconazol 1000 mg L⁻¹ 42

Figura 12. Efecto del Tebuconazol sobre el desarrollo micelial *in vitro* de *M. roreri*. a) Testigo b) Tebuconazol 250 mg L⁻¹ c) Tebuconazol 500 mg L⁻¹ d) Tebuconazol 1000 mg L⁻¹ 44

1.- INTRODUCCIÓN

La moniliasis [*Moniliophthora roreri* (Cif. y Par.) Evans *et al.*], es considerada la enfermedad más destructiva del cacao (*Theobroma cacao* L.) (Phillips-Mora, 2003). Ha sido reportada como dos veces más destructiva que la mazorca negra (*Phytophthora palmivora*, *P. capsici*) y más dañina y de difícil control que la escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*) (Aránzazu, 2000) Las pérdidas del 10 al 100% (Rorer 1926; Katip 1994), han provocado el abandono de las plantaciones en algunos países (Ecuador, Colombia, Venezuela, Costa Rica) (Krauss y Soberanis 2001; Enríquez *et al*, 1982).

La moniliasis del cacao (MC) se consignó por primera vez en Colombia en 1817 (Phillips, 2003), sin embargo el conocimiento de la importancia fue después de su diagnóstico en Ecuador (Rorer, 1921). Actualmente se encuentra distribuida en Ecuador, Colombia, Perú, Venezuela países de América central con excepción del Salvador y México (Torres-de la Cruz *et al.*, 2011). En México, se reportó en el 2005 (Phillips-Mora *et al*, 2006a), y actualmente se encuentra distribuida en las principales regiones productoras de cacao en los estados de Tabasco y Chiapas tomando el estatus de la principal limitante parasítica de la producción de cacao en el país, con pérdidas que alcanzan el 75 % de la producción (Torres-de la Cruz *et al*, 2011).

El método más aplicado para el combate de la MC ha sido control cultural. El uso de fungicidas es una práctica poco empleada, debido a los erráticos resultados que se han obtenido en evaluaciones de efectividad (Evans, 1981), la baja producción de muchas plantaciones y al fluctuante precio del cacao. No obstante, la selección de fungicidas efectivos contra *M. roreri* podría dar resultados favorables en las etapas de establecimiento del patógeno (González *et al.*, 1983; Murillo y González, 1984); además, si se usan de manera eficiente en plantaciones de cacao con alta productividad pueden representar una alternativa efectiva en el control de esta enfermedad y utilizarse en programas de manejo integrad; una estrategia de seleccionar fungicidas eficientes es iniciar con pruebas *in vitro*. Estas pruebas

permiten determinar el ingrediente activo con capacidad de inhibir el desarrollo micelial y la germinación de conidios del patógeno. Las pruebas *in vitro*, aunado a las pruebas de efectividad en condiciones de campo permiten la selección de fungicidas efectivos (Murillo y González, 1984).

En base en la importancia de la moniliasis como principal limitante fitosanitaria de la producción de cacao en México, se planteó el presente trabajo, cuyos objetivos se anuncian a continuación.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la efectividad biológica de moléculas químicas en el control de la moniliasis del cacao causada por *M. roleri*.

- Evaluar la efectividad de fungicidas sobre *M. roleri* bajo condiciones de campo.

1.1 Objetivos específicos:

- Determinar la efectividad de los fungicidas sistémicos Azoxystrobin, Tebuconazol, Trifloxystrobin, Tiabendazol, Propiconazol y del fungicida de contacto Clorotalonil en el desarrollo micelial y la germinación conidial de *M. roleri* bajo condiciones de laboratorio.
- Evaluar la efectividad de fungicidas sobre *M. roleri* bajo condiciones de campo.

1.2 Hipótesis

- Existe al menos un fungicida con la capacidad de inhibir el desarrollo micelial y la germinación conidial de *M. roleri in vitro*.
- Existe al menos un fungicida con la capacidad de disminuir la incidencia de la moniliasis del cacao bajo condiciones de campo.

2.- REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. El cacao

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es un árbol tropical de la familia Sterculiaceae que forma parte de los recursos florísticos de la cuenca amazónica (Whitlock *et al.*, 2001), de las regiones donde confluyen los ríos Orinoco y Amazonas en la vertiente atlántica de los Andes (Rangel, 1982). Su historia se remonta a los tiempos anteriores al descubrimiento de América, en donde ya era cultivado por los Mayas en lo que hoy comprende el Sur de México y Centroamérica, donde tanto los mayas como aztecas lo utilizaron como alimento y moneda (Wood, 1975). Estas plantaciones se extendieron de México a Costa Rica, y con el tiempo, el cultivo se dispersó a otros países de Sudamérica y el Caribe (Wood y Lass, 1985). El cacao se cultivó exclusivamente en el continente americano hasta 1890, cuando comenzó a plantarse en África (Ogata, 2007). En la actualidad, los países africanos obtienen los mayores volúmenes de producción de grano (Cueto *et al.*, 2007).

2.1.1. Situación mundial y nacional del Cacao.

Según datos estadísticos de la FAO (2011), en 2009 se cosecharon 8, 733,093 ha de cacao en el mundo, con una producción de 4, 082,270 t. Costa de Marfil es el principal productor, con 1, 221,600 t en una superficie de 2, 000,000 ha y un rendimiento de 611 kg ha⁻¹. En América, el principal productor es Brasil con una producción de 218,487 t en una superficie de 635,975 ha y un rendimiento de 343.5 kg ha⁻¹. México ocupa el decimotercero lugar a nivel mundial con una producción de 22,661 t en una superficie de 61,317 ha, con un rendimiento de 369.5 kg ha⁻¹ (Figura. 1).

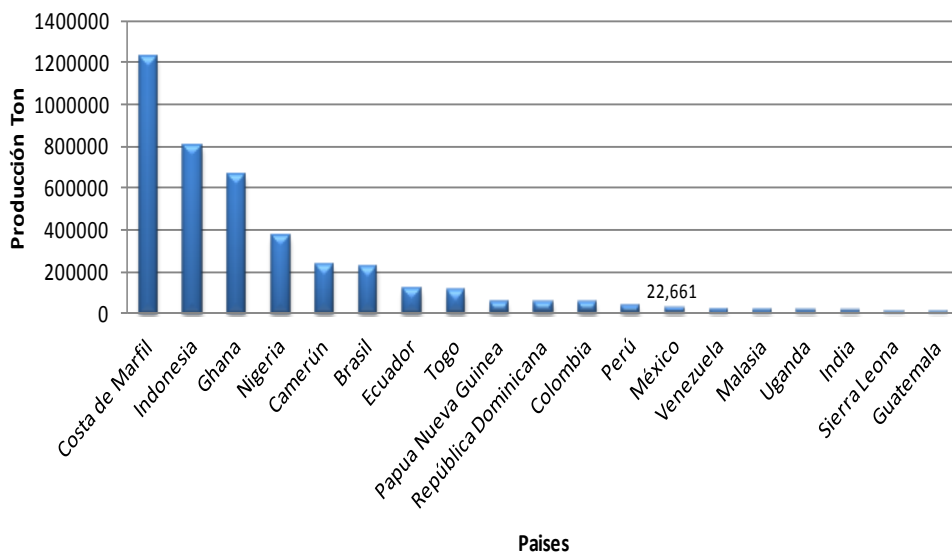


Figura 1. Producción mundial de cacao en grano por país en 2009.

Fuente: FAO (2011).

En México, la producción de cacao se encuentra concentrada en cuatro estados: Tabasco (70%), Chiapas (29%), Oaxaca y Guerrero (1.0%). En Tabasco, el cacao es uno de los principales recursos agrícolas. Se cultiva en 41,086 ha distribuidas en diez municipios y 29,505 familias dependen económicamente de este cultivo (OEIDRUS, 2009). El cacao en Tabasco es catalogado como un cultivo tradicional, de subsistencia familiar y altamente diversificado (Scherr, 1983). A lo largo de su historia en la entidad, en donde diversos factores han propiciado su crisis, el cultivo del cacao ha permanecido como una opción económica regional y ha mantenido su importancia aun cuando se han introducido otros cultivos rentables como caña de azúcar y plátano entre otros y se tienen actividades económicas sustantivas como la ganadería y la explotación petrolera (Scherr, 1983; Ramírez, 1997).

2.1.2. Pérdidas de cacao por *Moniliophthora roreri*

La MC, también es conocida con los nombres de “helada”, “pudrición acuosa de

la mazorca” y “enfermedad de Quevedo”, es una de las enfermedades más destructivas del cacao (Phillips-Mora, 2003). Ha sido reportada como dos veces más destructiva que la causada por *Phytophthora* spp. (Desrosiers y Díaz, 1957) y más dañina y difícil de controlar que la enfermedad escoba de bruja (*M. pernicioso*) (Aránzazu, 2000), debido a que el primer síntoma de infección es a menudo la ocurrencia de lesiones con abundante esporulación externa que facilita su dispersión (Maddison *et al.*, 1995).

Las pérdidas son altamente variables, desde un 10 a un 100% (Rorer, 1926; Katip, 1994, Torres-de la Cruz *et al.*, 2011), y dependen de factores como el tiempo que la enfermedad permanece en el sitio; edad de la plantación, fenología reproductiva, manejo del cultivo y de la enfermedad; presencia de plantaciones colindantes afectadas y condiciones ambientales (Phillips-Mora y Wilkinson, 2007; Torres-de la Cruz *et al.*, 2011). En algunos países donde se ha presentado la MC, las pérdidas bajo condiciones favorables, fluctúan entre el 30% y el 90%, lo que ha conducido al total abandono de las plantaciones (Krauss y Soberanis, 2001; Enríquez *et al.*, 1982). De acuerdo con Torres-de la Cruz *et al.* (2011), en Tabasco, México, las pérdidas por MC superan el 75 % y pueden alcanzar el 100% en plantaciones mal manejadas.

2.2. Síntomas ocasionados por *M. roreri*

M. roreri ataca únicamente a los frutos en cualquier estado de desarrollo (Evans, 1981; Phillips-Mora y Wilkinson, 2007). La infección ocurre en etapas juveniles y se desarrolla internamente mientras el fruto crece (Suárez, 1971); por lo que los frutos de distintas edades pueden estar infectados sin mostrar síntomas externos.

Síntomas internos. Frutos juveniles infectados en etapa de chilillo (7 a 10 cm de longitud) muestran fallas en el número y desarrollo de los granos (Evans, 1981; Torres de la Cruz, 2010). Los frutos infectados después de los tres meses de edad pueden mostrar necrosis de color marrón rojizo que afecta a algunas o todas las

semillas. En infecciones avanzadas, los carpelos, la pulpa y granos se vuelven una masa compacta rodeada por una sustancia acuosa como resultado de la maceración. Los frutos enfermos pesan más que los frutos sanos, aun cuando tengan tamaño similar. En frutos infectados de cuatro meses de edad, la infección puede limitarse al mesocarpo sin afectar las semillas, o bien, solo alcanzar algunos granos (Desroiser y Suárez, 1974; Phillips-Mora, 2004) (Figura 2).

Síntomas externos. En frutos menores de 20 días de edad se produce un marchitamiento similar al provocado por “*Cherelle wilt*” o al ocasionado por otras enfermedades (Phillips-Mora, 2004). En frutos de mayor edad, pero menores de dos meses, ocurren deformaciones a manera de *jiba* o jorobas. Es frecuente que algunos frutos enfermos presenten madurez prematura (Phillips-Mora, 2003). Otros síntomas son la aparición de pequeñas áreas aceitosas, usualmente difíciles de ser detectadas hasta que incrementan en tamaño para formar una mancha de color marrón oscuro de borde irregular también llamada *mancha chocolate* (Phillips-Mora, 2004), que puede dañar a todo el fruto; el cual, cuatro a ocho días después, se cubre con un micelio blanco y abundante esporulación del patógeno, tornándose de color oscuro debido a la maduración de esporas. La densidad de conidios puede ser de hasta 44 millones de conidios cm^2 . Los frutos infectados después de los tres meses de edad pueden, en algunos casos, no mostrar síntomas externos antes de ser cosechados; sin embargo, en su interior pueden mostrar necrosis que afecta a algunas o todas las semillas. En otros casos se observan puntos necróticos marrón oscuro y manchas oscuras limitadas, ligeramente hundidas, con frecuencia rodeadas de halos de maduración prematura (color amarillo) (Phillips-Mora, 2004); en semanas subsecuentes a la esporulación, el fruto pierde agua y progresivamente se momifica (Suárez, 1971) (Figura 2).

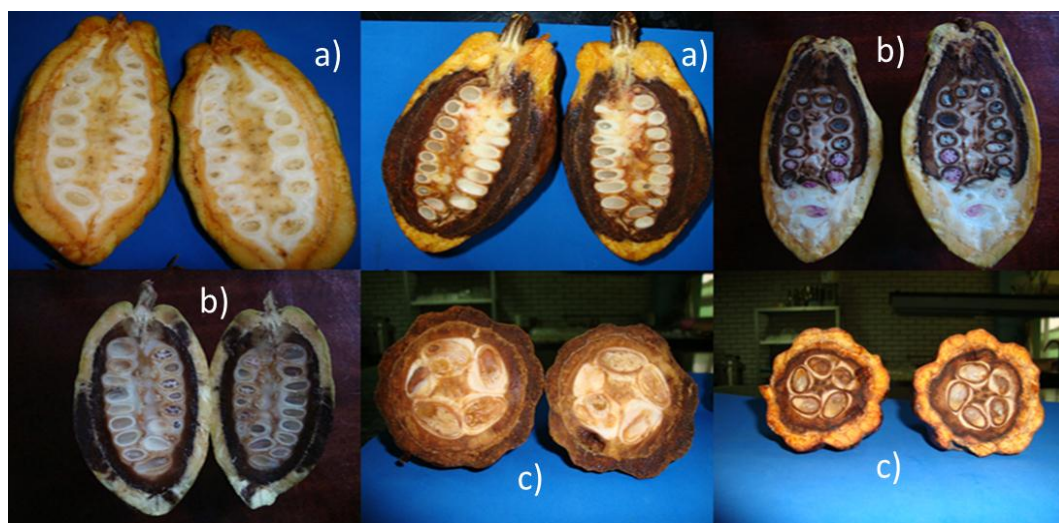


Figura 2. Síntomas Internos causados por la *Moniliophthora roreri* en Frutos de cacao. a) Frutos infectados en etapa de chilillo muestran fallas en el número y desarrollo de los granos. b) frutos infectados de tres meses de edad con necrosis de color marrón rojizo que afecta las semillas. c) Frutos con infecciones avanzadas, los carpelos, la pulpa y granos se vuelven una masa compacta y acuosa.

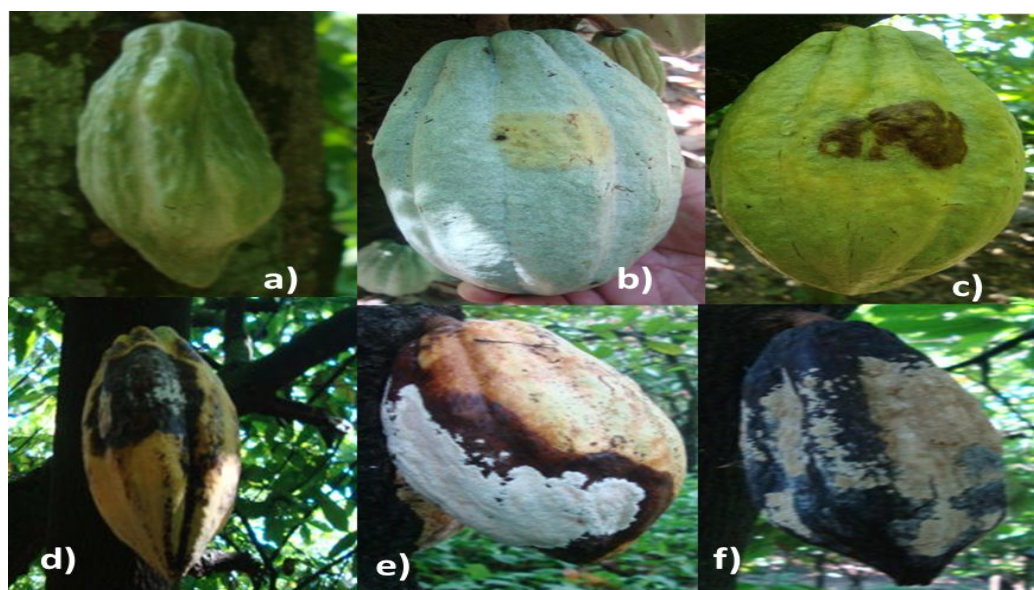


Figura 3. Síntomas Externos causados por la *Moniliophthora roreri* en Frutos de cacao. a) presencia de deformaciones llamadas jibas. b) puntos aceitosos. c) fruto con maduración fisiológica y mancha irregular color café. d) micelio en etapa inicial en mancha color café. e) micelio en etapa avanzada en sobre el fruto f) fruto momificado con micelio.

2.3. Taxonomía y morfología de *M. roreri*

El agente causal de la MC se describió originalmente por Ciferri y Parodi (1933), clasificándolo como *Monilia roreri*; sin embargo, Evans *et al.* (1978) observaron características miceliales típicas de Basidiomycetes, por lo que decidieron crear un nuevo nombre para denominar la especie con el nombre de *Moniliophthora roreri*. Phillips-Mora en el 2003, mediante técnicas moleculares confirmó que el hongo es un Basidiomycete perteneciente al orden Agaricales. Posteriormente, Aime y Phillips-Mora (2005) confirmaron la ubicación de *M. roreri* dentro de la familia *Tricholomataceae*. De acuerdo con Evans *et al.* (1978) y Aime y Phillips-Mora (2005), la clasificación taxonómica de *M. roreri* es la siguiente:

Clase: Basidiomycetes

Orden: Agaricales

Familia: Tricholomataceae

Género: *Moniliophthora*

Especie: *Moniliophthora roreri*.

M. roreri posee micelio septado con doliporos típicos (Figura 3). Las esporas se producen en cadenas con maduración basipétala (Evans, 1981) y se desprenden fácilmente del micelio; su pared es gruesa y amarilla-pálido o café cuando forman masas de esporas. Las esporas principalmente son globosas y elipsoides, 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).

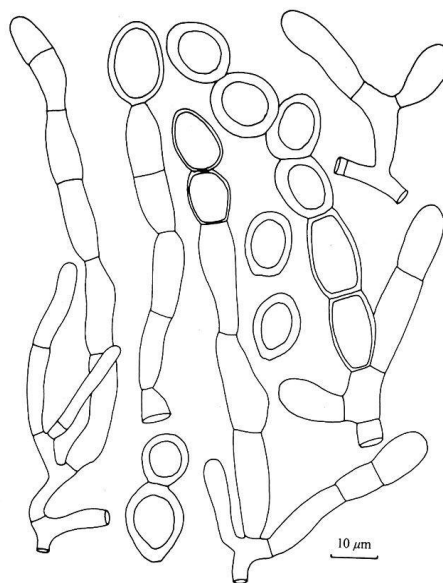


Figura 4. Estructuras morfológicas de *Moniliophthora roreri* mostrando micelio septado y esporas con pared gruesa (Evans, 1981).

2.4. Ciclo de vida de *M. roreri*

M. roreri es un patógeno hemibiotrófico (Griffith *et al.*, 2003), debido a que posee una etapa biotrófica y una necrotrófica. Este inusual ciclo vital pleomórfico, hemibiotrófico que presenta *M. roreri*, también es observado en otro de los patógenos importantes del cacao: *M. perniciososa*. Evans *et al.* (2002) proponen que la fase reproductiva observada en *M. roreri* es sexual, y que este patógeno corresponde a un teleomorfo modificado. De acuerdo con estos autores, durante la esporogénesis y germinación ocurre la meiosis, la cual da lugar a la formación de hifas infectivas monocarióticas. La fase parasítica haploide se da sólo en el tejido vivo (biotrófico), en la que el hongo crece y se alimenta intercelularmente sin activar los mecanismos de defensa del hospedero. Una señal no identificada (asociada con la edad del fruto) estimula la transición a la fase diploide necrotrófica, la cual induce los síntomas internos y externos característicos de la moniliasis (Figura 4).

2.4.1. Procesos de preinfección e infección

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 (Flores-Mora, 1989). 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 (Flores-Mora, 1989). Posteriormente a la penetración, hifas gruesas y delgadas crecen intercelularmente bajo de la epidermis (Suárez, 1971) y avanzan hasta la capa más profunda del tejido. Después el hongo invade inter e intracelularmente tejidos subyacentes causando necrosis (Flores-Mora, 1989), 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. 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 (Desroiser y Suárez, 1974).

2.4.2. Fuente de inóculo y mecanismos de dispersión

M. royeri 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 (Phillips-Mora, 2003; Evans, 1981). Las esporas son los únicos propágulos infectivos de *M. royeri*, y son diseminadas

principalmente por el viento. Se desprenden 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.) (Evans, 1981). Se impactan sobre el dosel de los árboles, tronco, cojinetes florales, y se desplazan por distancias considerables mientras no existan importantes barreras naturales (Phillips-Mora, 2003).

La dispersión a larga distancia ocurre también por actividades humanas (Evans, 1986) al transportar frutos enfermos; varetas y otros tejidos vegetativos infestados (Phillips-Mora, 2003). Porras y Enríquez (1998) sugieren que vientos fuertes como huracanes y tornados pueden ser agentes importantes de diseminación. Phillips-Mora (2003) mencionó que diferentes especies de animales han jugado un importante papel en la dispersión de *M. rozeri*.

2.5. Control de la moniliasis.

Las medidas que se han aplicado para el control de la MC incluyen: manejo cultural, control biológico, control genético y control químico.

En el manejo cultural se han incluidos prácticas como: la eliminación semanal de frutos con los síntomas iniciales de la enfermedad, en las distintas etapas de desarrollo del fruto, eliminación total de frutos en época de baja producción o al final de la principal etapa productiva (González *et al.*, 1983; Bateman *et al.*, 2005; Torres-de la Cruz *et al.*, 2011), poda sanitaria del árbol de cacao (eliminación de renuevos) reducción de la altura de la planta de 3 a 4 metros y control de malezas, así como el también el mantenimiento de drenes, poda de árboles de sombra (eliminación de renuevos, ramas cruzadas, viejas y enfermas) (Galindo, 1984; Barros, 1996), y cosecha oportuna de frutos (Bateman *et al.*, 2005). Acciones como estas permite eliminar el exceso de humedad, evitando la formación de microclimas húmedos, que favorecen el desarrollo de la enfermedad. Torres- de la Cruz *et al.*, (2011) demostraron la efectividad de las acciones culturales anteriores

bajo un enfoque de Manejo Integrado.

En el control biológico, Krauss y Soberanis (2001), reportaron el uso efectivo de mezclas micoparásitas para el control de la MC en Costa Rica, mediante la combinación de cinco aislamientos de *Clonastachis rosea*. Sin embargo, por su naturaleza, el control biológico por si mismo no elimina, sino que reduce las poblaciones de patógenos y como consecuencia, reduce la incidencia de la enfermedad; por lo tanto y para un mejor efecto, este tipo de control debe emplearse de manera integrada con otros métodos de control.

De acuerdo con Phillips-Mora (2004), el combate de la MC mediante resistencia genética resulta el método más barato, sencillo, duradero y eficaz; lo cual coincide con Robinson (2005). En este sentido, Phillips-Mora *et al.* (2005) han identificado una fuente con un significativo nivel de resistencia contra aislamientos de *M. roreri* en el clon ICS-95. Con base a lo anterior, el uso de la resistencia genética contra *M. roreri* es factible. Sin embargo, por lo tardado del proceso productivo del cacao el progreso en la investigación de resistencia no se ha visto aun reflejado en el combate exitoso de la enfermedad. Además la inclusión de plantaciones con cruzamientos resistentes a MC debe ser analizada para evitar la pérdida de diversidad genética entre las plantaciones de la región, y con ello pérdida de fuentes valiosas de genes.

De acuerdo con Torres-de la Cruz (2010), debido al tiempo que toman los programas de reconversión de plantaciones susceptibles a plantaciones resistentes o tolerantes, es necesario explorar productos químicos efectivos contra *M. roreri*, así como la asociación de estrategias de manejo integrado de cultivo que permitan reducir, a corto plazo, la intensidad de epidemias de la MC con bajo impacto ambiental y socioeconómico.

2.5.1. Control químico de *M. roreri*

En la búsqueda de productos químicos para combatir la MC, González *et al.* (1983) encontraron eficiencia parcial en fungicidas de tipo preventivo como el Clorotalonil. Posteriormente Murillo y González (1984) y Ram (1989) obtuvieron resultados similares con el óxido cuproso; sin embargo, con este último, la incidencia de marchitez fisiológica (Cherelle wilt) aumentó. Además el Clorotalonil está clasificado como I o II en la escala de toxicidad para los aplicadores de fungicidas de acuerdo a los criterios de la World Health Organization (WHO)/EPA. Por otro lado, Hidalgo *et al.* (2003) encontraron que el hidróxido de cobre redujo significativamente la incidencia de la moniliasis del cacao. Sánchez *et al.* (2003) realizó estudios con oxiclورو de cobre y Mancozeb alternándolos con Benomyl y con remoción de frutos. Laker (1991) evaluó el flutalonil para el control de escoba de bruja del cacao (*Moniliophthora perniciosa*), patógeno estrechamente relacionado a *M. roreri*, con resultados favorables. Bateman *et al.* (2005) encontraron mayor efectividad en el flutolanil que en el hidróxido de cobre al inicio de la estación productiva y mayor efectividad del hidróxido de cobre al termino de la estación productiva; por lo que sugirieron que el uso combinado de estos dos agentes (iniciando con el fungicida sistémico y posteriormente con el protectante) podría reducir significativamente las pérdidas de la producción por MC. Torres-de la Cruz (2010), evaluó el efecto de Azoxystrobin a 450 mg L⁻¹ sobre la germinación de conidios y el desarrollo micelial de *M. roreri* obteniendo el 100 y 90% de inhibición, respectivamente, a 450 mg L⁻¹; mientras que en condiciones de campo, Azoxystrobin a 1250 mg L⁻¹ mostró un 55% de eficiencia.

Pese a estos resultados el combate químico de la MC ha sido usualmente considerado antieconómico (Phillips, 2004) y en muchos casos ineficaz (Desrosiers y Suárez, 1974; Suárez, 1982; González *et al.*, 1983). De acuerdo con Torres-de la Cruz (2010) esta apreciación puede ser incorrecta tomando en cuenta que algunos experimentos han sido realizados en sistemas con baja productividad o cuando los precios del cacao son bajos; además puede deberse al empleo de

métodos de evaluación incorrectos de productos químicos de contacto, ya que debido al largo periodo de incubación que tiene la moniliasis se aplican a frutos ya enfermos, lo que propicia la sub evaluación de la efectividad del producto. De acuerdo con Murillo y González (1984), la selección de fungicidas efectivos contra *M. rozeri* podría dar resultados favorables (González *et al.*, 1983; Murillo y González, 1984) y si se usan de manera eficiente, pueden ser adoptados en el control de la moniliasis por los productores en cacaotales productivos.

De acuerdo con Bateman *et al* (2005) y López (1998) el uso de fungicidas sistémicos puede dar resultados favorables; sin embargo, se debe tener en cuenta la resistencia de la cepa de la región y realizar rotaciones de sistémicos con no sistémicos para evitar resistencia.

2.6. Uso de fungicidas en el control de fitopatógenos

La palabra fungicida se deriva de los términos latinos “*fungus*”; hongos y “*caedo*”; matar. Etimológicamente, fungicida, es todo agente con habilidad para destruir organismos fungosos. El calor, los ácidos, la luz ultravioleta, son agentes fungicidas físicos; sin embargo, el término fungicida se refiere a los productos químicos usados en la prevención y en algunos casos en la erradicación o curación de enfermedades producidas por hongos fitopatógenos. En otras palabras se habla de fungicida cuando la sustancia química produce la destrucción del hongo ocasionando una acción irreversible; en cambio cuando se trata de una acción fungistática ocurre una actividad reversible, produciendo un efecto inhibitorio temporal en la germinación de las esporas, diferenciándose así la acción fungicida de la acción fungistática (Ochoa, 2004).

En la actualidad se cuenta con un amplio espectro de compuestos fungicidas, los cuales pueden adaptarse a las formulaciones que satisfagan necesidades precisas. De acuerdo con Ochoa (2004), entre las características deseables en un fungicida se encuentran que debe ofrecer un control de la enfermedad eficaz y consistente;

no debe ser tóxico a la concentración recomendada y no debe afectar adversamente a otras partes del ecosistema del cultivo. Además los residuos que queden en el cultivo no deben ser un problema para el consumidor y aplicador en campo; así también, la formulación debe ser segura al almacenarse y transportarse.

2.6.1. Clasificación de fungicidas

Actualmente los fungicidas son una herramienta importante dentro de cualquier cultivo por lo cual, se debe tener el conocimiento de las propiedades de cada fungicida a usar. Las características que se deben tener en cuenta en un fungicida son su toxicidad (Cuadro 1), naturaleza química, el momento de aplicación, el sitio de aplicación (Cuadro 2), su modo de acción en el hospedante así como también su mecanismo de acción en el patógeno (Cuadro 3).

Cuadro 1. Tipos de fungicidas por su nivel de toxicidad.

| Categoría I | Categoría II | Categoría III |
|--|---|---|
| Toxicidad alta | Toxicidad media | Toxicidad baja |
| DL50: .050 mg | DL50: 50-500 mg | DL50: superior a 500 mg |
| Productos muy peligrosos, deben manejarse bajo normas de seguridad | Medianamente peligrosos y tóxicos pueden manejarse bajo normas de seguridad | Se pueden manejar con precaución y sin normas de seguridad. |

Fuente: Patiño y Rodríguez., 2001.

Cuadro 2. Tipos de fungicidas por su naturaleza química, momento de aplicación y sitio de aplicación.

| | | |
|------------------------------|----------------------|--|
| Por su naturaleza química | 1.- Inorgánicos | Azufre, Cobre, Mercurio |
| | 2.- Organosintéticos | Ditiocarbamatos, Benzimidazoles, Triazoles, Carbamatos, Estrobilurinas. |
| Por el momento de aplicación | Preventivos | Previenen el establecimiento de nuevas infecciones |
| | Curativos | Eliminan o “curan infecciones” establecidas. No eliminan las lesiones ya visibles. |
| Por el sitio de aplicación | Suelo | Hongos habitantes del suelo. |
| | Follaje | Se aplican principalmente con equipo terrestre y aéreo. |
| | Semilla | Contra hongos del suelo y que se transmiten por semilla. |
| | Cosecha | Dirigidos a enfermedades en postcosecha. |

Fuente: Orozco-Santos (2008); Fungicide Resistance Action Committee (2007).

Cuadro 3. Tipos de fungicidas por su modo de acción a nivel hospedante y patógeno.

| | | |
|--|-------------------------------------|---|
| Por el modo de acción a nivel hospedante | Contacto o Protectante | Fungicida que está presente como una barrera protectante antes que el patógeno llegue. |
| | Sistémicos | Actúan interrumpiendo el desarrollo del agente causante de la enfermedad, después de iniciada la infección. |
| | Mesostémicos | Afinidad por la superficie foliar, penetra en el tejido, presenta actividad translaminar. |
| Por el mecanismos de acción a nivel patógeno | Síntesis de Ácidos Nucleícos | Ac. Carboxílicos, Heteroaromáticos Phenylamidas |
| | Mitosis y División Celular | Benzimidazoles, Thiohanatos, Phenylcarbamatos, Benzamidas, Phenylureas |
| | Respiración | Estrobilurinas, Pyrimidinas, Carboxamidas |
| | Síntesis de Aminoácidos y Proteínas | Anilopirimidinas, Ác. Enopyranuronico, Hexopyranosyl, Glucopyranosyl |
| | Biosíntesis de Esterol en Membranas | Triazoles, Imidazoles Pyrimidinas Piperazinas |
| | Actividad Multisitios | Inorgánicos, Dithiocarbamatos, Cloronitrilos, Phthalimidas. |

Fuente: Orozco-Santos (2008); Fungicide Resistance Action Committee.

2.7. Estrobilurinas

Las estrobilurinas son un nuevo grupo de fungicidas que inhiben la respiración mitocondrial bloqueando el sitio Qo1 (sitio de oxidación de quinonas en la membrana interna de la mitocondria), del complejo enzimático citocromo *bc₁* (Complejo III); ésta inhibición bloquea la transferencia de electrones entre el citocromo *b* y el citocromo *c₁* con lo cual, se provoca una diferencia en la producción de energía en las células del hongo, deteniéndose la producción de ATP (Bartlett *et al.*, 2002). Constituyen un grupo químico en el que se encuentran las estrobilurinas A y B, derivados del ácido β-metoxiacrílico (McGrath, 2001). Tienen actividad principalmente preventiva, curativa, con efectos translaminares (penetra la lámina foliar). Las esporas de los hongos son más susceptibles a este grupo de fungicidas que el micelio, por tanto las estrobilurinas son altamente eficientes en el control de la germinación de esporas y la penetración al hospedero (Hamdy, 2007).

Las estrobilurinas tienen una particular importancia contra los cuatro grandes grupos de hongos patógenos (ascomicetes, basidiomicetes, deuteromicetes y oomycetes); sin embargo, estos fungicidas varían en sus niveles de efectividad y no todos los fungicidas pueden dar altos niveles de eficiencias contra estos grupos de hongos (Bartlett *et al.*, 2002). Las estrobilurinas han llegado a ser esenciales para el control de enfermedades agrícolas importantes, su uso se ha en varios cultivos, como hortalizas, cereales, pastos, vid, vegetales y ornamentales (Fernández-Ortuño *et al.*, 2008). Desafortunadamente, el riesgo de desarrollar resistencia por parte de estos fungicidas es alto. McGrath (2001) menciona que el uso de estrobilurinas presentó resistencia en el control *Podosphaera xanthii* causante del mildiú de la uva; por tanto se requiere contar con estrategias para disminuir el riesgo de desarrollar resistencia.

2.7.1. Uso del Azoxystrobin en el control de fitopatógenos

Pertenece al grupo de las estrobilurinas. Es un nuevo grupo de fungicidas sistémicos con modo de acción sistémico de baja toxicidad (tipo IV) a mamíferos (Thomson, 1997), de origen natural con amplio espectro de control (Clough y Godfrey, 1996). Presenta actividad translaminar que le confiere la capacidad de ser absorbido y distribuido localmente dentro del tejido y actúa sobre la respiración mitocondrial (Brandt *et al.*, 1988; Anke, 1995). Es un fungicida con actividad preventiva, curativa y erradicante, inhibe la germinación de esporas y el crecimiento micelial; con propiedades sistémicas y translaminares (Fernández-Ortuño *et al.*, 2008; Hamdy, 2007, Torres de la Cruz, 2010).

Azoxystrobin ha mostrado un control eficiente en varias enfermedades y cultivos. Fue eficiente para reducir la raíz corchosa (*Pyrenochaeta lycopersici*), la verticilosis (*Verticillium dahliae*) la antracnosis (*Colletotrichum acutatum*) en jitomate (Bubici *et al.*, 2006; Gutiérrez *et al.*, 2006). En mango, evaluaciones *in vitro* inhibieron completamente el crecimiento de *C. gloeosporioides*, y las aplicaciones en campo controlaron la enfermedad en panículas, hojas y frutos (Sundravadana *et al.*, 2007; Rui *et al.*, 2004). Azoxystrobin fue el fungicida más efectivo para el control de pudriciones postcosecha en aguacate (Everett *et al.*, 2005). la aplicación del fungicida redujo la incidencia de la antracnosis en precosecha (*Colletotrichum gloeosporioides*) en frutos de mandarina (Zhang y Timmer; 2007). Controló pudriciones causadas por *Fusarium pallidoroseum* en melones almacenados a temperatura ambiente y en refrigeración (Terao *et al.*, 2006). En cítricos se observó que la aplicación de Azoxystrobin redujo la incidencia de *Diaporthe citri*, agente causal de la melanosis cuando la inoculación se hizo posterior a la aplicación del fungicida, sin embargo su efectividad se redujo cuando el fungicida se aplicó posterior a la inoculación con el patógeno (Bushong y Timmer, 2000). Resultados similares obtuvo Wong y Wilcox (2001), donde el fungicida proporcionó 100 % de control de *Plasmopara viticola* causante de mildiú en vid; esto antes de la inoculación del hongo; aplicaciones posteriores a la infección tuvo menor efecto en controlar la incidencia de la enfermedad; aun

así, se redujo el área de las lesiones y la esporulación de las colonias causadas por el hongo, por lo que representa un alternativa para el control de patógenos en postcosecha. Torres-de la Cruz (2010) señala efecto terapéutico del Azoxystrobin sobre frutos de cacao con infecciones tempranas de *Moniliophthora roreri*.

2.7.2. Trifloxystrobin en el control de fitopatógenos

El Trifloxystrobin es un fungicida del grupo de las Estrobilurinas. Pertenece a la clase química de los oximinoacetatos y su nombre químico es ester metil ácido (E, E)-metoxyimino-[2-[1-(3trifluorometil-fenil)-etilideneaminoximetil]-fenil]-acético; es mesostémico de amplio espectro, con actividad preventiva y curativa (Fernández-Ortuño *et al.*, 2008; Hamdy, 2007; Bartlett *et al.*, 2002). Impide el crecimiento de los primeros estados del desarrollo de los hongos como la germinación de las esporas, extensión del tubo germinativo y formación de los apresorios. Las partículas depositadas sobre la superficie de la planta constituyen una reserva protectora ya que la alta afinidad de la molécula con las capas cerosas resiste al lavado por las lluvias. Aunque penetra poco, posee cierta actividad curativa contra los patógenos que se encuentran cerca de la superficie. También tiene actividad translaminar por difusión a la capa opuesta de la cutícula de la hoja y se reparte a cortas distancias en zonas no tratadas de la planta y alcanza a otras plantas de la parcela por acción de vapor. Estas características se han denominado mesosistémicas o mesostémicas (Consultado 10 octubre 2010. Disponible en http://www.terraia.com/agroquimicos_de_mexico). En los Peronosporales impide la liberación de zoosporas. En los estados siguientes a la penetración, afecta a la formación de haustorios y al crecimiento superficial del micelio en los oídios y al crecimiento en los estomas subcuticulares en *Venturia inaequalis*. En el caso del oídio del manzano, del durazno y de la vid, actúa sobre la germinación de esporas y en la formación de los apresorios. En el moteado del manzano y del peral, tanto sobre la germinación de las conidias y penetración del micelio como en la formación y crecimiento del estroma y en la esporulación del hongo.

El Trifloxystrobin ha demostrado eficiencia en el control de sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en plátano (Chin *et al.*, 2001). También ha mostrado efectividad en el control del *Plasmopara viticola* y *Uncinula necator* agentes causal del mildiú y oídio de la vid (Miller y Gubler, 2004; Moshe, 2001). En jitomate controló la raíz corchosa (*Pyrenochaeta lycopersici*) y la verticilosis (*Verticillium dahliae*) (Bubici *et al.*, 2006). También se ha utilizado en el control de la Moniliasis del Cacao en combinación con otros fungicidas en donde se ah obtenidos resultados de control manteniendo la incidencia de la enfermedad en el más bajo nivel y permitiendo la cosecha de mayor cantidad de frutos sanos (Ayala., 2008) pero aun no se ha probado su efecto de forma individual.

2.8. Triazoles

Los triazoles son un grupo de fungicidas que inhiben el citocromo P-450 de la monooxygenasa que cataliza la reacción de metilación de la enzima C14-desmetilasa, en el ciclo de la biosíntesis del ergosterol. Son llamados Inhibidores dimetil (DMI's) porque inhiben el proceso de metilación (Marín y Romero 1992). Esta acción trae como consecuencia la ruptura de la membrana semipermeable con la consiguiente pérdida de solutos de las células (Ramos, 1989). La propiedad general del triazol es que tiene una amplia variabilidad química sin pérdida de sus propiedades biológicas, y alta eficiencia contra numerosos hongos fitopatógenos. Algunos triazoles presentan actividad sistémica, tienen propiedades protectoras, curativas y erradicativas; son empleados en dosis bajas, tienen una amplia actividad contra hongos patógenos humanos, presentan actividad contra bacterias gran-positivas y tienen funciones de reguladores de crecimiento en plantas. Este grupo posee diversos miembros como ciproconazol, flusilazol, flutriafol, metconazol, miclobutanil, Propiconazol, protioconazol, tebuconazol y tetraconazol (Villeda, 1998) y tienen un amplio espectro protectante y actividad curativa en áreas foliares, raíces, y en enfermedades como, manchas foliares, cenillas, mildius polvorientos, royas y otras causadas por ascomicetes imperfectos, y basidiomicetes. Los triazoles también pueden ser aplicados en

aspersiones foliares, en tratamientos al suelo y a la semillas (Agrios, 1988).

2.8.1. Uso del Tebuconazol en el control de fitopatógenos

El tebuconazol pertenece al grupo de los triazoles. Actúa como inhibidor de la síntesis del Ergosterol; sin embargo, sus cualidades intrínsecas le conceden una particular efectividad y rapidez de acción, evidenciando desarreglo en el metabolismo de los hongos susceptibles, deteniendo las estructuras de las paredes celulares y deteniendo el crecimiento del tubo germinativo, haustorios y demás órganos de fijación. Su alta sistematicidad le permite una rápida penetración y movimiento en el tejido vegetal en donde se distribuye uniformemente (Consultado 2 Noviembre. 2010. Disponible en http://www.agrytec.com/agricola/images/stories/secciones/sanidad_vegetal/auspicicante/folicur.pdf). Como otros azoles, impide la desmetilación del C14 del lanosterol que da lugar a la acumulación de trimetilesteroles, pero tebuconazol, en un paso posterior, impide la deshidrogenación con lo que también se produce una acumulación de otros esteroides. Por su actividad sistémica, proporciona un buen control de las enfermedades internas y externas en la superficie externa de semillas. En la planta se trasloca en sentido acrópeto, de forma que es absorbido por el vegetal y traslocado hacia los meristemas terminales en los que se acumula ligeramente. Es poco móvil y por tanto no se lixivia. En el agua se hidroliza y se fotoliza con una vida media de unos 28 días. Las especies con las que se han experimentados destacan: la roya amarilla del trigo (*Puccinia striiformis* f.sp. (Delgado *et al.*, 2005), *Puccinia allii* (roya del ajo y de la cebolla), *Puccinia* spp. (roya de los cereales), *Pyrenophora teres* (helmintosporiosis), *Sclerotinia sclerotiorum* (podredumbre blanca), *Podosphaera [Sphaerotheca] pannosa* (oídio del durazno y rosál), *Spilocaea oleaginea* (repilo del olivo), *Pleospora herbarum* (mancha gris de la hoja), *Tilletia caries* (caries o tizón del trigo), *T. foetida* (caries o tizón de los cereales), *Urocystis cepulae* (roya del ajo y de la cebolla), *Uromyces appendiculatus* (roya de la judía), *Ustilago avenae* (carbón desnudo de la avena), *U. nuda* (carbón desnudo de la cebada y del trigo) y otras enfermedades causadas

por basidiomicetes. (Consultado 10 octubre 2010. Disponible en http://www.terraia.com/agroquimicos_de_mexico), en el control de la moniliasis ah sido utilizada en forma grupal con otros fungicidas como el Triadimenol, Propineb, Trifloxystrobin (Ayala., 2008).

2.8.2. Propiconazol en el control de fitopatógenos

El Propiconazol inhibe la enzima que cataliza la reacción de desmetilación del C-14, en la biosíntesis del ergosterol; por lo cual, es conocido como inhibidor de la demetilación (Jones, 2000). Es un fungicida altamente sistémico a baja concentración, controla deuteromicetos, ascomicetos y basidiomicetos. Es absorbido por las hojas y tallos de los cereales dentro de las 24 horas de la aplicación, y transportado acrópetalmente en la planta (Sheinphflug & Kukck, 1987). Este producto se absorbe por las hojas y tallos en un periodo de tiempo relativamente corto dependiendo del cultivo y de las condiciones ambientales. El movimiento sistémico asegura una distribución uniforme del producto dentro de la planta y una protección limitada del nuevo crecimiento (Anónimo, 1986).

En el control de la roya amarilla en trigo (*Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*) el Propiconazol fue uno de los que brindó el mejor resultado a los 15 después de la aplicación, con un 94.1% de control (Delgado *et al.*, 2005). Murillo y González (1984) evaluaron el Propiconazol en *M. royeri* en pruebas *in vitro* a 1 y 10 mg L⁻¹. Estas pruebas mostraron poca eficiencia en el control de conidios y desarrollo micelial; sin embargo aún no ah sido probado en plantaciones de cacao.

2.9. Benzimidazoles

A este grupo pertenecen los fungicidas sistémicos con mayor espectro de acción. Son compuestos que tienen su origen en la molécula del Benzimidazol y su modo de acción fungicida es la de interferir en la síntesis del ADN (Ortiz, 1989). Jones (2000) menciona que actúa en la prevención de la formación del microtúbulo (fibra del huso), el cual es necesario para la división celular en la mitosis y

meiosis; alcanzando la β -tubulina, que es una proteína importante en la composición del microtúbulo.

2.9.1. Uso del Tiabendazol en el control de fitopatógenos

El Tiabendazol pertenece al grupo químico del Metil-benzimidazol carbamato. Es un fungicida sistémico, de amplio espectro de acción para el control preventivo y curativo de enfermedades fungosas de plantas. Evita las infecciones al atacar el tubo germinativo que emiten las esporas, impide la proliferación del micelio en el interior de las plantas o de las partes ya cosechadas, por lo tanto actúa en forma preventiva, curativa y erradicativa. Gutiérrez y Gutiérrez (2003) evaluaron la resistencia de Tiabendazol para el control de *Colletotrichum gloeosporioides* en frutos de guayaba donde los aislamientos del fueron sensibles a Tiabendazol a partir de 0.1 mg L^{-1} mostrando el 100% de inhibición de crecimiento micelial. López *et al* (2005) evaluaron el Tiabendazol en los patógenos *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y *Verticillium dahliae* en cultivos de frijol a 600 mg L^{-1} inhibiendo por completo el crecimiento micelial de *F. oxysporum* y *R. solani* *V. dahliae*. Este fungicida no se ha probado en *M. roreri* por lo cual sería una opción para realizar evaluaciones en laboratorio para ver su efecto sobre el crecimiento micelial y germinación conidial.

2.10. Clorotalonil en el control de fitopatógenos

Su nombre químico es tetracloroisofaltonitrilo, su ingrediente activo es Clorotalonil, y pertenece al grupo químico aromático. Es un fungicida de contacto, de amplio espectro, que posee acción preventiva y evita la generación de resistencias. Su modo de acción es intervenir en el metabolismo energético de la célula. Se destaca por su persistencia y tolerancia al lavado de lluvias y riego. Es efectivo contra una amplia gama de hongos fitopatógenos. Está descrito para controlar *B. cinérea* en vides pisqueras, papas, tomates, ajos, puerros, pinos y eucaliptus entre otros. Chincilla y Mora (1986) evaluaron el Clorotalonil en

Septoria aplicola en apio; las aplicaciones semanales de Clorotalonil con Hidróxido de Cobre redujeron drásticamente la severidad del ataque de *S. aplicola*. Morales (2001) realizó aplicaciones de Clorotalonil para el control de *Phytophthora infestans* en papa donde las aplicaciones del fungicida redujo significativamente la infección foliar causada por el patógeno sin afectar los rendimientos ni la calidad de los tubérculos. Murillo y Gonzales (1983) al Clorotalonil sobre *Moniliophthora roreri* con efecto en campo 31% de incidencia con respecto al testigo que fue del 93% de incidencia.

2.11. Resistencia de los patógenos a los fungicidas

La resistencia de los hongos se define como la reducción de la sensibilidad a dichos fungicidas, con la consecuente pérdida de eficacia del producto químico para dichos hongos. Al hablar de fungicidas comúnmente se consideran como equivalentes los términos: resistencia, tolerancia o reducción de sensibilidad, pero se refiere el termino resistencia (Guzmán, 1997).

2.11.1 Tipos de resistencia

La resistencia a fungicidas puede ser cruzada y múltiple. La resistencia cruzada es aquella en la cual las poblaciones de hongos son resistentes a los fungicidas de un mismo grupo químico, mientras que la resistencia múltiple se da cuando las poblaciones de hongos son resistentes a los fungicidas de más de un grupo químico. El riesgo de resistencia de la enfermedad presente al fungicida dependerá esencialmente de la clase química a la que el fungicida pertenezca (Carmona 2010).

2.11.2. Resistencia de hongos a fungicidas sistémicos

Con la aparición de los fungicidas sistémicos modernos, la agricultura obtuvo una nueva arma en el control de hongos fitopatógenos. Entretanto, a medida que el hombre mejoró sus estrategias de control, también los patógenos pasaron por alteraciones genéticas que los han tornado resistentes a algunas moléculas químicas. Como reflexión de este proceso, los casos de resistencia que, hasta la década de 1970 se limitaban a menos de diez géneros de hongos, pasaron, en 1988 a cerca de 64 (Carmona 2010).

La resistencia puede ser definida como un ajuste estable y hereditario de un hongo a un fungicida (Carmona, 2010). De este ajuste resulta una reducción de la sensibilidad del patógeno al compuesto químico, el cual puede ser parcial o total. Con la introducción de los fungicidas sistémicos la inducción de resistencia ha aumentado considerablemente. En algunos casos, dos años después del uso de un fungicida en campo puede llegar a ser detectada la resistencia al mismo. La mayoría de los grupos nuevos han sido seriamente afectados, con excepción de los morfolínicos, fosetil y triciclazole. Entre los fungicidas utilizados actualmente, los más afectados por la resistencia han sido los Benzimidazoles, las acilalaninas y algunos triazoles (Carmona, 2010) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Fungicidas y su riesgo de resistencia.

| RIESGO DE RESISTENCIA | CLASE QUIMICA |
|------------------------------|---|
| ALTO | Benzimidazoles, dicarboximidias, Phenylamidias, estrobilurinas. |
| MODERADO | 2-Aminopyrimidinas, triazoles, anilopyrimidinas, carboxanilides, hidrocarbomos aromáticos, cymoxanil, dimethomorph, fentins, phenylpyrroles, phosphorothiolates, pyrimidine, carbinols. |
| BAJO | Acibenzolar-S.methy, fluazinam, Clorotalonil, dithiocarbamatos, cobres, phthalimides, azufres, probenazole, tricyclazote, quinixyfen. |

Fuente: Carmona (2010).

La acción fungicida es realmente una reacción bioquímica que supone íntimo contacto entre los componentes de la reacción. Si este íntimo contacto no ocurre, no se presenta la reacción y hay resistencia. De acuerdo con Guzmán (1997), los mecanismos más importantes de resistencia se pueden dividir en:

- **Menor permeabilidad de las membranas celulares:** en este, los individuos resistentes escapan a la acción fungicida porque las membranas celulares no permiten la entrada del producto; los que si permiten la entrada, son susceptibles
- **Rutas metabólicas alternas:** en este caso el tóxico toma otra ruta en los individuos resistentes, de manera que esquivan los sitios de acción de los patógenos.
- **Detoxificación del fungicida:** el patógeno resistente es capaz de metabolizar el producto y los metabolitos producidos no son fitotóxicos.
- **Falta de activación del fungicida por el patógeno:** en ciertos casos algunos productos no son fungicidas en sí mismos si no que deben sufrir un cambio o metabolización (activación) dentro del patógeno para convertirse en fungitóxico; en los individuos resistentes esta activación dentro del patógeno no ocurre y, por lo tanto, escapan a la acción del producto.
- **Alteración del sitio reactivo:** cuando el fungicida es de acción específica actúa sobre un solo sitio del patógeno, una modificación en este sitio puede traer como consecuencia una falta de acople entre el patógeno y el fungicida resulta en resistencia.

Por otro lado, los fungicidas cúpricos, a base de azufre, los ditiocarbamatos (Mancozeb), los ftalimídicos (captan) y el Clorotalonil, han resistido por largo tiempo, manteniendo su eficiencia a pesar de su uso extensivo (Carmona 2010).

2.11.3. Estrategias anti-resistencia.

En áreas de alta presión por una determinada enfermedad o al tratarse de un patógeno de alto riesgo, en una misma campaña y para un cultivo dado, no se deben realizar aplicaciones repetidas de fungicidas sistémicos solamente. Se debe utilizar los fungicidas sistémicos alternadamente o en asociación con otros productos de diferente modo y mecanismo de acción. Cuando la alternancia o la combinación no sean posibles, la aplicación de los fungicidas sujetos a la resistencia debe estar reservada a las fases críticas del desarrollo del cultivo (Carmona, 2010).

3.- MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en dos fases experimentales. La primera consistió en evaluar la efectividad de tratamientos químicos de Azoxystrobin, Tebuconazol, Trifloxystrobin, Tiabendazol, Propiconazol y Clorotalonil, sobre el desarrollo micelial y la germinación conidial de *M. royeri* bajo condiciones de laboratorio; con lo cual, se obtuvieron los tratamientos con mayor efectividad para la segunda fase experimental. En la segunda fase se evaluó el efecto de los fungicidas sistémicos Trifloxystrobin, Tebuconazol, Propiconazol y Azoxystrobin sobre la incidencia de la moniliasis del cacao bajo condiciones de campo. Para esta investigación se aisló, purificó e identificó el hongo *M. royeri*.

Aislamiento e identificación de *M. royeri*.

La cepa de *M. royeri* se aisló de frutos de cacao en estado inicial de necrosis externa, procedentes del municipio de Jalpa de Méndez, Tabasco. Los frutos se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 2.5% durante 1 min, y enjuagaron por tres veces con agua destilada estéril (López, 1954). La epidermis se removió y fracciones de tejido interno se transfirieron sobre papa dextrosa agar (PDA) de acuerdo con metodología propuesta por Evans (1981). Aislamientos monoconidiales de *M. royeri* se obtuvieron de colonias maduras de 10 días, se cultivaron en medio V8 clarificado y se incubaron a 25 °C en oscuridad. La especie se identificó morfológicamente de acuerdo con Phillips-Mora *et al.* (2006a) y Evans (1981) en base al color de la colonia, forma del conidióforo, largo y ancho de conidios.

Evaluación *in vitro* de fungicidas sobre el desarrollo micelial y la germinación conidial de *M. royeri*.

Los fungicidas Azoxystrobin, Tebuconazol, Trifloxystrobin, Tiabendazol, Propiconazol y Clorotalonil se evaluaron *in vitro* a concentraciones de 250, 500 y

1000 mg L⁻¹ (Cuadro 5), añadidos cuando el medio PDA alcanzó una temperatura de 50 °C (a medio líquido) (Zavala-León *et al.*, 2005), y posteriormente el medio se vertió en cajas de Petri de 15 cm de diámetro para su solidificación y uso.

Cuadro 5. Fungicidas evaluados para el control de Moniliasis del cacao

| Tratamientos | | Dosis | | Modo de Acción |
|--------------|-----------------|---|--|----------------|
| No. | Productos | Laboratorio | Campo | |
| 1 | Testigo | _____ | _____ | |
| 2 | Azoxystrobin | 1. 250 mg L ⁻¹ 2. 500 mg L ⁻¹ 3. 1000 mg L ⁻¹ 1 | 1. 400 mg L ⁻¹ 2. 800 mg L ⁻¹ | Sistémico |
| 3 | Trifloxystrobin | 1. 250 mg L ⁻¹ 2. 500 mg L ⁻¹ 3. 1000 mg L ⁻¹ 1 | 1. 400 mg L ⁻¹ 2. 800 mg L ⁻¹ | Sistémico |
| 4 | Propiconazol | 1. 250 mg L ⁻¹ 2. 500 mg L ⁻¹ 3. 1000 mg L ⁻¹ 1 | 1.400 mg L ⁻¹ 2. 800 mg L ⁻¹ | Sistémico |
| 5 | Tebuconazol | 1. 250 mg L ⁻¹ 2. 500 mg L ⁻¹ 3. 1000 mg L ⁻¹ 1 | 1. 400 mg L ⁻¹ 2. 800 mg L ⁻¹ | Sistémico |
| 6 | Tiabendazol | 1. 250 mg L ⁻¹ 2. 500 mg L ⁻¹ 3. 1000 mg L ⁻¹ 1 | | Sistémico |

| | | | | |
|---|--------------|---|--|----------|
| 7 | Clorotalonil | <ol style="list-style-type: none"> 1. 250 mg L⁻¹ 2. 500 mg L⁻¹ 3. 1000 mg L⁻¹ | | Contacto |
|---|--------------|---|--|----------|

Germinación conidial

Colonias de *M. royeri* de 10 días de edad se utilizaron para preparar una solución de 5×10^6 conidios/mL, de la cual 30 μ L se distribuyeron en tres regiones de la caja Petri con PDA. La suspensión de conidios se cubrió con cubreobjetos estériles y las cajas se incubaron a 25 ± 1 °C. El porcentaje de germinación se determinó con base en la lectura de 100 conidios por repetición (cinco repeticiones) y tratamiento (cada uno de los fungicidas y sus respectivas concentraciones). Las lecturas se realizaron cada 2 h durante las primeras 24 h. Después, las lecturas se realizaron cada 24 h hasta las 144 h tiempo en que el testigo (sin fungicida) superó el 90% de germinación. Se consideraron conidios germinados cuando el tubo germinativo alcanzó la longitud de la mitad del conidio (4-6 μ m).

Desarrollo micelial

De colonias de 15 días de crecimiento se extrajeron discos de micelio de 5 mm de diámetro y se colocaron en el centro de las cajas petri con PDA con las concentraciones del fungicida (cinco repeticiones por tratamiento) e incubaron a 25 ± 1 °C. El crecimiento micelial, medido (cm) en dos ejes (horizontal y vertical), se evaluó cada 24 h, con ayuda de un vernier manual (Trupper ®). Las mediciones terminaron a los diecisiete días, tiempo en que el testigo (sin fungicida) llenó la caja.

Efectividad en campo de fungicidas en el control de la moniliasis del cacao.

La fase de campo se realizó en una plantación de 20 años de edad en el municipio de Jalpa de Méndez, Tabasco, ubicada a 13 msnm, 18°10'33.5" latitud norte y 93°08'45" longitud oeste. La plantación estuvo constituida por una mezcla de híbridos susceptibles, dispuestos en un diseño de plantación en marco real de 3.5 x 3.5 m.

En la plantación se delimitaron dos áreas experimentales con base en a la incidencia observada (alta y baja incidencia), la primera con la finalidad de evaluar la efectividad de fungicidas en un área de alta incidencia de moniliasis y la segunda para observar la efectividad en un sistema con baja incidencia.

Instalación y manejo de las parcelas experimentales

Cuarenta y cinco árboles de cacao con 10 frutos/árbol de 2 a 3 meses de edad fueron seleccionados. Cada árbol con sus respectivos frutos se consideró una unidad experimental. Los árboles fueron marcados para su identificación en campo y los frutos fueron etiquetados con una clave respectiva al tratamiento (Figura 5). Los fungicidas Trifloxystrobin, Tebuconazol, Propiconazol y Azoxystrobin (seleccionados previamente *in vitro*) fueron evaluados a dosis de 400 y 800 mg L⁻¹ sobre la incidencia de la moniliasis bajo condiciones de campo en los arboles seleccionados; así, un total de ocho tratamientos, más un control sin fungicida, fueron evaluados (cada uno con cinco repeticiones), bajo un diseño completamente al azar. Los fungicidas se aplicaron una sola vez, con aspersión dirigida a los frutos utilizando bomba de mochila. A los 20, 40 y 50 días, posteriores a la aplicación de los tratamientos sistémicos, todos los frutos tratados, excepto el tratamiento testigo, fueron protegidos con hidróxido de cobre a 7500 mg L⁻¹ (1500 g.i.a. ha⁻¹) (Bateman *et al.*, 2005), para evitar infecciones posteriores. La incidencia de frutos que manifestaron mancha color marrón de borde irregular (*mancha chocolate*) y esporulación como síntomas externos de la

moniliasis del cacao se cuantificó semanalmente de acuerdo con Torres-de la Cruz *et al.* (2011).



Figura 5. Frutos etiquetados en campo: A) Tratamiento Propiconazol. B) Testigo

Diseño experimental y Análisis de datos

Los porcentajes de inhibición de la germinación conidial y del crecimiento micelial (*in vitro*); así como de la mortalidad final (*in vivo*), se calcularon mediante la fórmula de Abbott (1925):

$$\text{Eficiencia} = \frac{\text{Testigo} - \text{Resultado}}{\text{Testigo} * 100}$$

Los porcentajes de eficiencia de las pruebas fueron transformados al arcoseno de la raíz cuadrada del valor porcentual y sometidos a un análisis de varianza bajo un diseño completamente al azar, y prueba de separación de medias correspondiente (Tukey; $P \leq 0.05$) mediante SAS (SAS, 1998).

4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento.

La colonia del patógeno aislado, en medio V8 clarificado (Figura 6a), mostró un crecimiento inicial blanquecino, el cual posteriormente se tornó color salmón-crema y finalmente café oscuro debido a la formación masiva de esporas. Los conidios (Figura 6 b) fueron ramificados, dando lugar a una cadena de conidios con maduración basipétala de acuerdo con lo descrito por Phillips-Mora (2003). Las esporas fueron de pared gruesa, color amarillo pálido y heteromórficas, pero comúnmente (75 %) globosas a subglobosas (5 a 10 μm de diámetro), con un 19 % elipsoide (6-10 x 9-20 μm). Las características del aislamiento coincidieron con las reportadas por Phillips-Mora *et al.* (2006a) y Evans (1981) para *M. roreri*.

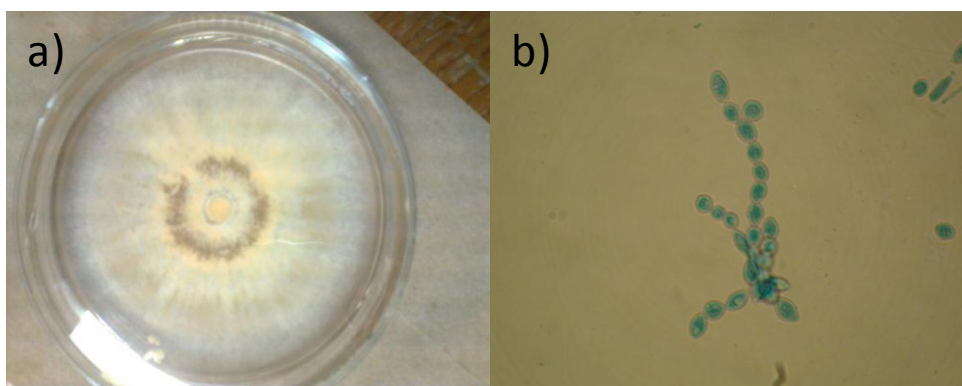


Figura 6. a) Colonia de *M. roreri* en medio V8 clarificado. b) Conidios de *M. roreri*.

Efectividad *in vitro* de fungicidas sistémicos y de contacto sobre la germinación de conidios y crecimiento micelial en *M. roreri*.

Clorotalonil

El análisis estadístico del efecto de las diferentes dosis del Clorotalonil sobre la germinación conidial de *M. roreri*, después de 10 horas de exposición, no mostró diferencias significativas ($P \leq 0.05$). Las dosis probadas inhibieron la germinación de conidios en un 100% (Cuadro 6). Estos resultados concuerdan con Umaña y Gonzales (1981) los cuales encontraron eficacia del Clorotalonil del 85% sobre la germinación conidial de *M. roreri* con una concentración inferior a las utilizadas en este trabajo (10 mg L^{-1}). En relación al desarrollo micelial, el análisis estadístico del efecto de las diferentes dosis del Clorotalonil, después de 96 horas de exposición, mostró diferencias significativas ($P=0.0001$). El Clorotalonil a 1000 mg L^{-1} inhibió el 67% el desarrollo del *M. roreri* siendo la mejor dosis de estos tratamientos. La dosis con menor efectividad fue 250 mg L^{-1} (Cuadro 6, Figura 7). Estos resultados sugieren que el Clorotalonil es eficiente en dosis menores a 250 mg L^{-1} para inhibir la germinación de conidios de *M. roreri in vitro*, sin embargo, se requieren altas dosis ($>1000 \text{ mg L}^{-1}$) para inhibir el 70% del crecimiento micelial.

Cuadro 6. Efecto del Clorotalonil sobre la germinación de conidios y el desarrollo micelial de *M. roreri in vitro*.

| Tratamiento | Germinación eficiencia Abbott (% inhibición) | | Desarrollo micelial Eficacia Abbott (% inhibición) | |
|-------------------|--|------|--|------|
| TESTIGO | ---- | ---- | ---- | ---- |
| Clorotalonil 250 | 100 | a | 40 ± 3.5 | c |
| Clorotalonil 500 | 100 | a | 59.5 ± 4.0 | b |
| Clorotalonil 1000 | 100 | a | 67.8 ± 1.8 | a |

^y Valores con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, 0.05%)

^z Valores no calculados debido a la naturaleza de la fórmula de Abbott.

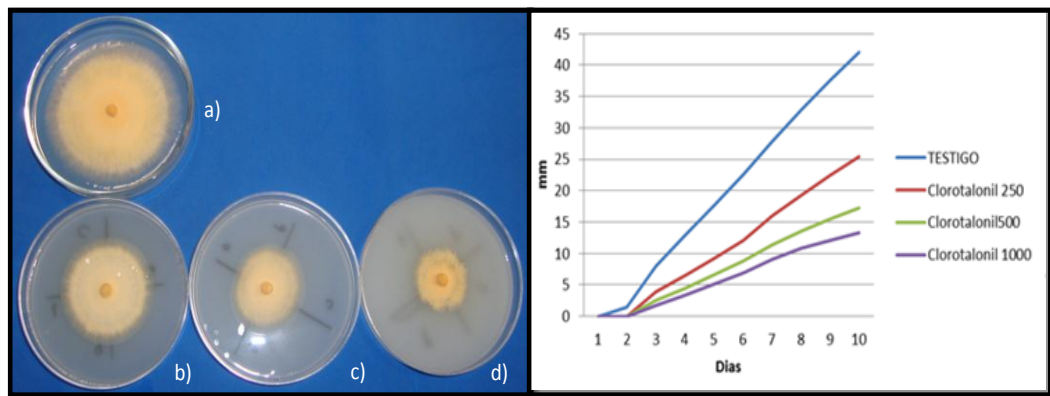


Figura 7. Efecto del Clorotalonil sobre el desarrollo micelial in vitro de *M. roseri*. a) Testigo b) Clorotalonil 250 mg L⁻¹ c) Clorotalonil 500 mg L⁻¹ c) Clorotalonil 1000 mg L⁻¹

Tiabendazol

El análisis estadístico del efecto de las diferentes dosis del Tiabendazol sobre la germinación conidial de *M. roseri*, después de 10 horas de exposición, mostró diferencias significativas ($P=0.0001$). El Tiabendazol a 250 y 500 mg L⁻¹ mostraron la menor inhibición (30 y 47 % respectivamente); sin embargo, a 1000 mg L⁻¹ inhibió el 67% de la germinación (Cuadro 7). Brent (1999) menciona que este fungicida actúa en el proceso de mitosis y meiosis, por lo tanto, no evita la germinación de conidios, sin embargo, genera deformaciones del conidio y tubo germinativo, los cual fue confirmado en la presente investigación al encontrar conidios y tubos germinativos deformados en todas las dosis evaluadas.

En relación al desarrollo micelial el análisis estadístico manifestó diferencias significativas ($P=0.0001$) después de las 192 horas, registrando la mayor efectividad el Tiabendazol a 1000 mg L⁻¹, inhibiendo el desarrollo micelial de *M. roseri* en 59%, sin mostrar diferencias significativas con Tiabendazol a 500 mg L⁻¹; sin embargo, el 50% de inhibición del desarrollo micelial fue logrado con 250 mg L⁻¹ (Cuadro 7, Figura 8). La eficiencia del Tiabendazol sobre el desarrollo micelial, encontrada en el presente estudio, difiere con los resultados obtenidos por Gutiérrez y Gutiérrez (2003) cuando evaluaron el Tiabendazol para el control de *Colletotrichum gloeosporioides* en frutos de guayaba donde los aislamientos

del patógeno fueron sensibles a Tiabendazol a partir de 0.1 mg L⁻¹ mostrando el 100% de inhibición de crecimiento micelial. Así también López *et al* (2005) evaluaron el Tiabendazol sobre *Fusarium oxysporum*, inhibiendo por completo el crecimiento micelial a 600 mg L⁻¹. Por otra parte Hernández *et al* (2006) encontraron que para *Alternaria dauci* se requirió una dosis de 1728.8 mg L⁻¹ para lograr inhibición del 50% del desarrollo micelial, y que a concentraciones de 2000 mg L⁻¹ el patógeno alcanzó a formar conidios. De acuerdo con Van Tuyl (1977), los fungicidas sistémicos son selectivos y actúan en un sitio específico en el metabolismo de la célula, por tanto, una diferencia genética en los diferentes patógenos puede resultar en resistencia.

Cuadro 7. Efecto del Tiabendazol sobre la germinación de conidios y el desarrollo micelial *in vitro* de *M. roreri*.

| Tratamiento | Germinación eficiencia Abbott (% inhibición) | | Desarrollo micelial Eficacia Abbott (% inhibición) | |
|------------------|--|------|--|------|
| TESTIGO | ---- | ---- | ---- | ---- |
| Tiabendazol 250 | 30 ± 4.5 | c | 51 ± 6.4 | b |
| Tiabendazol 500 | 47 ± 2.0 | b | 53.3 ± 1.9 | ba |
| Tiabendazol 1000 | 64 ± 1.7 | a | 59.4 ± 5.3 | a |

^y Valores con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, 0.05%)

^z Valores no calculados debido a la naturaleza de la formula de Abbott.

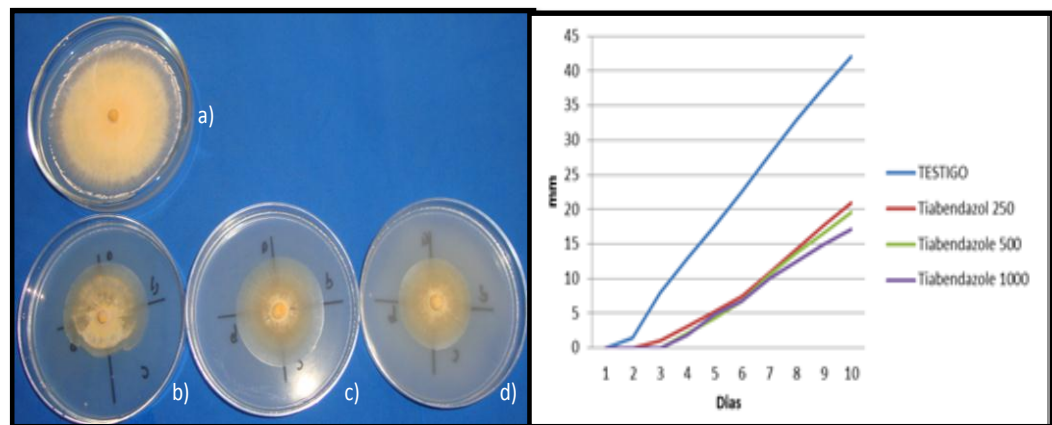


Figura 8. Efecto del Tiabendazol sobre el desarrollo micelial *in vitro* de *M. roreri*. a) Testigo b) Tiabendazol 250 mg L⁻¹ c) Tiabendazol 500 mg L⁻¹ d) Tiabendazol 1000 mg L⁻¹

Azoxystrobin

El análisis estadístico del efecto de las diferentes dosis del Azoxystrobin sobre la germinación conidial de *M. royeri*, después de 10 horas de exposición, mostró diferencias significativas ($P=0.0001$). Las dosis de 500 y 1000 mg L⁻¹ mostraron 100% de efectividad, mientras el tratamiento a 250 mg L⁻¹ mostró el 89.5% de efectividad (Cuadro 8). Estos resultados concuerdan con lo obtenido por Torres de la Cruz (2010) el cual encontró efectividad del 100% en la inhibición de la geminación de *M. royeri* con 400 mg L⁻¹.

Con respecto al desarrollo micelial, el análisis estadístico del efecto de las diferentes dosis del Azoxystrobin sobre el desarrollo micelial de *M. royeri* después de 144 horas de exposición mostro diferencias significativas ($P=0.0001$). El Azoxystrobin a 1000 mg L⁻¹ inhibió el 78% el desarrollo del *M. royeri* siendo la mejor dosis de estos tratamientos (Cuadro 8, Figura 9). El tratamiento con la menor efectividad fue Azoxystrobin a 250 mg L⁻¹ con 73% de eficiencia. Estos resultados concuerdan con Torres de la Cruz, el cual reportó inhibición del 96% del desarrollo micelial de *M. royeri* con 1250 mg L⁻¹.

Cuadro 8. Efecto del Azoxystrobin sobre la germinación de conidios y el desarrollo micelial *in vitro* de *M. royeri*.

| Tratamiento | Germinación eficiencia Abbott (% inhibición) | | Desarrollo micelial Eficacia Abbott (% inhibición) | |
|-------------------|--|------|--|------|
| TESTIGO | ---- ^z | ---- | ---- ^z | ---- |
| Azoxystrobin 250 | 89.6 ± 1.7 | b | 73.3 ± 0.7 | b |
| Azoxystrobin 500 | 100 | a | 72.4 ± 1.7 | b |
| Azoxystrobin 1000 | 100 | a | 78.7 ± 1.1 | a |

^y Valores con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, 0.05%)

^z Valores no calculados debido a la naturaleza de la formula de Abbott.

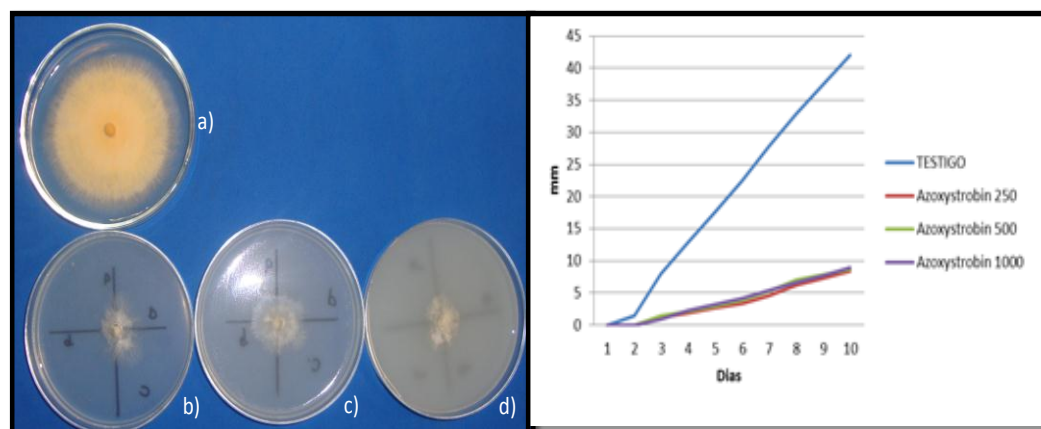


Figura 9. Efecto del Azoxystrobin sobre el desarrollo micelial *in vitro* de *M. royeri*. a) Testigo b) Azoxystrobin 250 mg L⁻¹ c) Azoxystrobin 500 mg L⁻¹ d) Azoxystrobin 1000 mg L⁻¹

Trifloxystrobin

El análisis estadístico del efecto de las diferentes dosis del Trifloxystrobin sobre la germinación conidial de *M. royeri*, no mostro diferencias significativas ($P \leq 0.05$). Las dosis evaluadas inhibieron el 100% de la germinación (Cuadro 9), mientras que el testigo mostró germinación a partir de las 10 horas y alcanzó el 97 % a las 120 horas. El efecto del Trifloxystrobin sobre el desarrollo micelial, fue similar al obtenido en la germinación de *M. royeri*. El análisis estadístico del efecto de las diferentes dosis del Trifloxystrobin, después de 96 horas de exposición no mostro diferencias significativas ($P \leq 0.05$). Las tres dosis empleadas inhibieron el 100% del desarrollo micelial (Cuadro 9, Fig.10).

Cuadro 9. Efecto del Trifloxystrobin sobre la germinación de conidios y el desarrollo micelial *in vitro* de *M. royeri*.

| Tratamiento | Germinación eficiencia Abbott (% inhibición) | | Desarrollo micelial Eficacia Abbott (% inhibición) | |
|----------------------|--|------|--|------|
| TESTIGO | ---- | ---- | ---- | ---- |
| Trifloxystrobin 250 | 100 | a | 100 | a |
| Trifloxystrobin 500 | 100 | a | 100 | a |
| Trifloxystrobin 1000 | 100 | a | 100 | a |

^y Valores con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, 0.05%)

^z Valores no calculados debido a la naturaleza de la formula de Abbott.

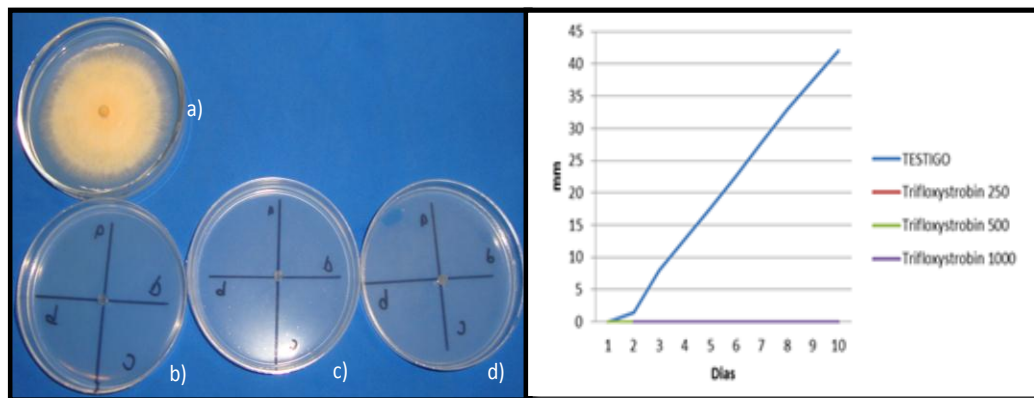


Figura 10. Efecto del Trifloxystrobin sobre el desarrollo micelial *in vitro* de *M. royeri*. a) Testigo b) Trifloxystrobin 250 mg L⁻¹ c) Trifloxystrobin 500 mg L⁻¹ d) Trifloxystrobin 1000 mg L⁻¹

El Trifloxystrobin *in vitro* demostró la capacidad de restringir la germinación conidial y el desarrollo micelial de *M. royeri* en todas las dosis evaluadas. No existen reportes de trabajos *in vitro* con Trifloxystrobin sobre *M. royeri*, ni en especies emparentadas; sin embargo, en otros cultivos y patógenos se ha observado su efectividad. Al respecto, Trifloxystrobin ha demostrado eficiencia en el control de sigatoka negra (*Mycosphaerella fijensis*) en plátano (Chin *et al.*, 2001). También ha mostrado efectividad en el control del *Plasmopara vitícola* y *Uncinula necator* agentes causal del mildiú y oídio de la vid (Miller y Gubler, 2004; Moshe, 2001) y *Colletotrichum gloeosporioides* en frutos de papaya maradol (Torres- de la Cruz *et al.*, 2011).

Propiconazol

El análisis estadístico del efecto de las diferentes dosis del Propiconazol sobre la germinación conidial de *M. royeri*, después de 120 horas de exposición, mostró diferencias significativas (P=0.0001) en donde el testigo mostró 100% de germinación; la dosis que mostró menor inhibición sobre la germinación de conidios fue a 250 mg L⁻¹ con un porcentaje de 99%. Las dosis que mostraron efectividad al 100% fueron la de 500 y 1000 mg L⁻¹ suprimiendo la germinación de *M. royeri*. (Cuadro 10). En lo que respecta al desarrollo micelial, el análisis estadístico del efecto de las diferentes dosis del Propiconazol sobre el desarrollo

micelial de *M. roreri* después de 96 horas de exposición no mostró diferencias significativas ($P \leq 0.05$). Las tres dosis empleadas inhibieron el 100% de la germinación del micelio de *M. roreri* (Cuadro 10 Fig. 11.). Al respecto, Hernández *et al* (2006) reportó que el Propiconazol a 18.9 mg L^{-1} inhibió el crecimiento de *Alternaria dauci* (patógeno de la zanahoria) en un 90% y Torres (2002) evaluó la efectividad del fungicida en *Mycosphaerella fijensis in vitro* y en plantaciones de plátano, observando que el porcentaje de inhibición fue superior al 50% en dosis de 0.01 mg L^{-1} . En este trabajo, el Propiconazol mostró, *in vitro*, resultados parecidos a los obtenidos por el Trifloxystrobin, al inhibir el crecimiento micelial y germinación conidial de *M. roreri* al 100%.

Cuadro 10. Efecto del Propiconazol sobre la germinación de conidios y el desarrollo micelial *in vitro* de *M. roreri*.

| Tratamiento | Germinación eficiencia Abbott (% inhibición) | | Desarrollo micelial Eficacia Abbott (% inhibición) | |
|-------------------|--|------|--|------|
| TESTIGO | ---- ^z | ---- | ---- ^z | ---- |
| Propiconazol 250 | 99 ± 0 | b | 100 | b |
| Propiconazol 500 | 100 | a | 100 | b |
| Propiconazol 1000 | 100 | a | 100 | a |

^y Valores con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, 0.05%)

^z Valores no calculados debido a la naturaleza de la fórmula de Abbott.

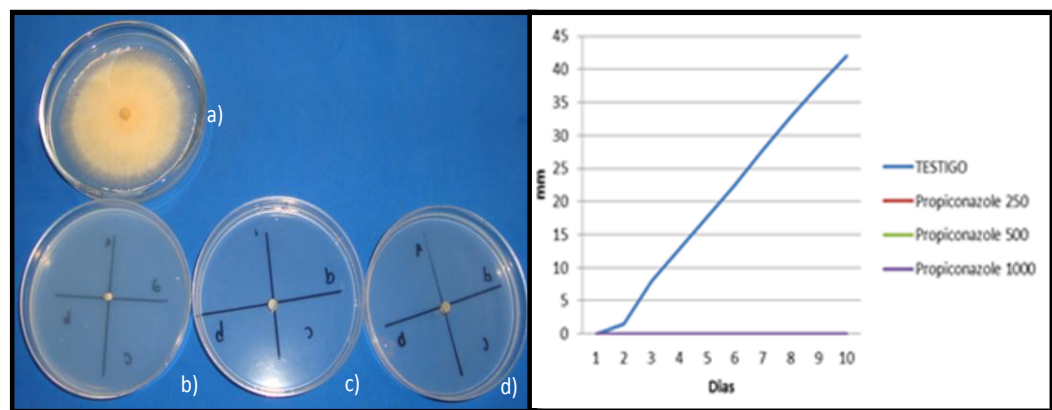


Figura 11. Efecto del Propiconazol sobre el desarrollo micelial *in vitro* de *M. roreri*. a) Testigo b) Propiconazol 250 mg L^{-1} c) Propiconazol 500 mg L^{-1} d) Propiconazol 1000 mg L^{-1}

Tebuconazol

El análisis estadístico del efecto de las diferentes dosis del Tebuconazol sobre la germinación conidial de *M. roreri*, después de 10 horas de exposición, no mostro diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en ninguna de las dosis evaluadas (Cuadro 11), a diferencia del testigo que a partir de las 24 horas empezó a germinar hasta llegar al 100% de germinación de conidios de *M. roreri*. En cuanto al desarrollo micelial, el análisis estadístico del efecto de las diferentes dosis del Tebuconazol, después de 96 horas de exposición, no mostro diferencias significativas ($P \leq 0.05$). Las dosis empleadas inhibieron el 100% de la germinación del micelio de *M. roreri*. Al respecto Félix-Gastélum (2007) encontró que el Tebuconazol, en dosis de 30.0 mg L^{-1} , ejerció un marcado efecto inhibitorio del 100% en la germinación de conidios y del desarrollo micelial de *Cercospora sp*, en Tomatillo (*Physalis ixocarpa*). El Tebuconazol inhibió el crecimiento micelial y germinación conidial de *M. roreri* al igual que el Trifloxystrobin y el Propiconazol (Cuadro 11, Figura 12).

Cuadro 11. Efecto del Tebuconazol sobre la germinación de conidios y el desarrollo micelial *in vitro* de *M. roreri*.

| Tratamiento | Germinación eficiencia Abbott (% inhibición) | | Desarrollo micelial Eficacia Abbott (% inhibición) | |
|------------------|--|------|--|------|
| TESTIGO | ---- ^z | ---- | ---- ^z | ---- |
| Tebuconazol 250 | 100 | a | 100 | a |
| Tebuconazol 500 | 100 | a | 100 | a |
| Tebuconazol 1000 | 100 | a | 100 | a |

^y Valores con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, 0.05%)

^z Valores no calculados debido a la naturaleza de la formula de Abbott.

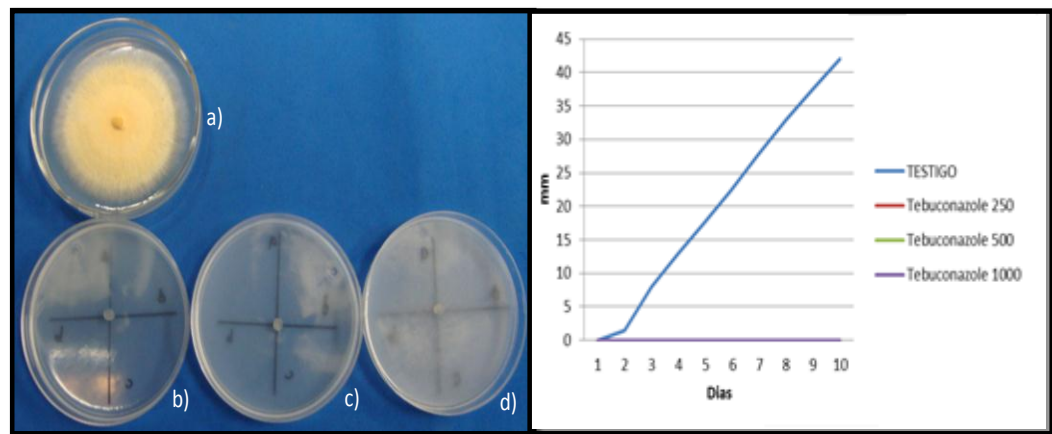


Figura12. Efecto del Tebuconazol sobre el desarrollo micelial *in vitro* de *M. royeri*. a) Testigo b) Tebuconazol 250 mg L⁻¹ c) Tebuconazol 500 mg L⁻¹ d) Tebuconazol 1000 mg L⁻¹

Efectividad *in vivo* de fungicidas en el control de la moniliasis del cacao, en una plantación con alta incidencia.

Azoxystrobin

El análisis estadísticos del efecto del Azoxystrobin en el control de la moniliasis del cacao, en condiciones de campo, mostro diferencias significativas (P=0.0001) donde el tratamiento de 800 mg L⁻¹ fue la mejor dosis empleada en el control de *M. royeri*. La dosis con menor efectividad fue 400 mg L⁻¹. (Cuadro 12).

Cuadro 12. Efecto del Azoxystrobin *in vivo* sobre la moniliasis del cacao, en una plantación con alta incidencia.

| Fungicida | Eficiencia Abbott (% inhibición) | |
|------------------|-------------------------------------|------|
| TESTIGO | ---- ^z | ---- |
| Azoxystrobin 400 | 32.2 ± 20.1 | b |
| Azoxystrobin 800 | 69.9 ± 13.4 | a |

^y Valores con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, 0.05%)

^z Valores no calculados debido a la naturaleza de la formula de Abbott.

Trifloxystrobin

El análisis estadísticos del efecto del Trifloxystrobin en el control de la moniliasis del cacao, en condiciones de campo, mostro diferencias significativas ($P=0.0001$) donde el tratamiento de 800 mg L^{-1} fue estadísticamente mejor para el control de *M. rozeri* y la dosis menos efectiva fue la de 400 mg L^{-1} . (Cuadro 13).

Cuadro 13. Efecto del Trifloxystrobin *in vivo* sobre la moniliasis del cacao, en una zona de alta de incidencia.

| Fungicida | Eficiencia Abbott (% inhibición) | |
|---------------------|-------------------------------------|------|
| TESTIGO | ---- ^z | ---- |
| Trifloxystrobin 400 | 28.7 ± 19.1 | b |
| Trifloxystrobin 800 | 65.5 ± 13.6 | a |

^y Valores con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, 0.05%)

^z Valores no calculados debido a la naturaleza de la formula de Abbott.

Tebuconazol

El análisis estadísticos del efecto del tebuconazol en el control de la moniliasis del cacao, en condiciones de campo, no mostró diferencias significativas ($P<0.05$), donde los de 400 y 800 mg L^{-1} fueron estadísticamente iguales para el control de *M. rozeri* (Cuadro 14), con una efectividad de 58 y 65 % respectivamente.

Cuadro 14. Efecto del Tebuconazol, *in vivo*, sobre la moniliasis del cacao, en una Plantación con alta de incidencia.

| Fungicida | Eficiencia Abbott (% inhibición) | |
|-----------------|-------------------------------------|------|
| TESTIGO | ---- ^z | ---- |
| Tebuconazol 400 | 58.1 ± 17.9 | a |
| Tebuconazol 800 | 64.6 ± 13.2 | a |

^y Valores con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, 0.05%)

^z Valores no calculados debido a la naturaleza de la formula de Abbott.

Propiconazol

El análisis estadísticos del efecto del Propiconazol en el control de la moniliasis del cacao, en condiciones de campo, no mostró diferencias significativas ($P < 0.05$), donde los tratamiento de 400 y 800 mg L⁻¹ fueron estadísticamente iguales en el control de *M. royeri* (Cuadro 15).

Cuadro 15. Efecto del Propiconazol *in vivo* sobre la moniliasis del cacao, en una plantación con alta de incidencia.

| Fungicida | Eficiencia Abbott (% inhibición) | |
|------------------|-------------------------------------|------|
| TESTIGO | ---- ^z | ---- |
| Propiconazol 400 | 60.5 ± 28.4 | a |
| Propiconazol 800 | 60.2 ± 15.1 | a |

^y Valores con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, 0.05%)

^z Valores no calculados debido a la naturaleza de la formula de Abbott.

Análisis general de la efectividad de fungicidas sobre la moniliasis del cacao en un sistema de alta incidencia.

La incidencia promedio de la moniliasis del cacao en el testigo fue del 60%. El análisis estadístico de todas los fungicidas y dosis evaluadas mostró diferencias significativas ($P = 0.0001$) en la efectividad de los fungicidas sobre la incidencia de *M. royeri*. (Cuadro 16). El tratamiento que mostró la mayor eficiencia (69.9%) fue Azoxystrobin a 800 mg L⁻¹, sin existir diferencias con Trifloxystrobin a 800 mg L⁻¹, Tebuconazol a 800 y 400 mg L⁻¹, y Propiconazol a 800 y 400 mg L⁻¹; sin embargo, Azoxystrobin y Trifloxystrobin a 800 mg L⁻¹ obtuvieron los valores más altos para el control de *M. royeri*. Trifloxystrobin y Azoxystrobin a 400 mg L⁻¹ mostraron los valores más bajos. (28.7 y 32.2% respectivamente).

Cuadro 16. Efectividad *in vivo* de fungicidas sistémicos sobre la moniliasis del cacao en una zona con alta incidencia.

| Fungicidas | Eficacia Abbott (% inhibición) ^y | |
|---------------------|--|-----|
| Azoxystrobin 400 | 32.2 ± 20.1 | c |
| Azoxystrobin 800 | 69.9 ± 13.4 | a |
| Trifloxystrobin 400 | 28.7 ± 19.1 | c |
| Trifloxystrobin 800 | 65.5 ± 13.6 | a |
| Propiconazole 400 | 60.5 ± 28.4 | ba |
| Propiconazole 800 | 60.2 ± 15.1 | ba |
| Tebuconazole 400 | 58.1 ± 17.9 | bac |
| Tebuconazole 800 | 64.6 ± 13.2 | a |

^y Valores con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, 0.05%)

^z Valores no calculados debido a la naturaleza de la fórmula de Abbott.

Efectividad *in vivo* de fungicidas en el control de la moniliasis del cacao, en una plantación con baja incidencia.

Azoxystrobin

El análisis estadísticos del efecto del Azoxystrobin en el control de la moniliasis del cacao, en condiciones de campo, mostro diferencias significativas ($P=0.0001$) donde el tratamiento de 800 mg L⁻¹ fue la mejor dosis empleada en el control de *M. royeri* con una efectividad del 100%. La menor efectividad fue mostrada por la dosis de 400 mg L⁻¹ con el 70% (Cuadro 17); sin embargo, en ambas dosis, la efectividad fue mayor a la obtenida por el Azoxystrobin en la plantación de alta incidencia.

Cuadro 17. Efecto del Azoxystrobin in vivo sobre la moniliasis del cacao, en una plantación con baja incidencia.

| Fungicida | Eficiencia Abbott (% inhibición) | |
|------------------|-------------------------------------|------|
| TESTIGO | ---- ^z | ---- |
| Azoxystrobin 400 | 70.1 ± 5.0 | b |
| Azoxystrobin 800 | 100 | a |

^y Valores con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, 0.05%)

^z Valores no calculados debido a la naturaleza de la formula de Abbott.

Trifloxystrobin

El análisis estadísticos del efecto del Trifloxystrobin en el control de la moniliasis del cacao, en condiciones de campo con incidencia baja de la enfermedad, no mostró diferencias significativas ($P > 0.05$) donde los tratamiento de 400 y 800 mg L⁻¹ fueron estadísticamente iguales para el control de *M. royeri* (Cuadro 18). De igual manera, la efectividad mostrada en esta evaluación fue mayor a la mostrada en la plantación de alta incidencia.

Cuadro 18. Efecto del Trifloxystrobin in vivo sobre la moniliasis del cacao, en una plantación con baja incidencia.

| Fungicida | Eficiencia Abbott (% inhibición) | |
|---------------------|-------------------------------------|------|
| TESTIGO | ---- ^z | ---- |
| Trifloxystrobin 400 | 94.7 ± 10.4 | a |
| Trifloxystrobin 800 | 93.3 ± 13.2 | a |

^y Valores con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, 0.05%)

^z Valores no calculados debido a la naturaleza de la formula de Abbott.

Tebuconazol

El análisis estadísticos del efecto del Tebuconazol en el control de la moniliasis del cacao, en condiciones de campo con incidencia baja de la enfermedad, no mostró diferencias significativas ($P > 0.05$) donde los tratamiento de 400 y 800 mg

L⁻¹ fueron estadísticamente iguales para el control de *M. royeri* (Cuadro 19). Sin embargo los resultados obtenidos en esta prueba, fueron menores a los alcanzados en la plantación con alta incidencia.

Cuadro 19. Efecto del Tebuconazol in vivo sobre la moniliasis del cacao, en una zona de baja de incidencia.

| Fungicida | Eficiencia Abbott (% inhibición) | |
|-----------------|-------------------------------------|------|
| TESTIGO | ---- ^z | ---- |
| Tebuconazol 400 | 25.7 ± 1.4 | a |
| Tebuconazol 800 | 38.7 ± 25.9 | a |

^y Valores con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, 0.05%)

^z Valores no calculados debido a la naturaleza de la formula de Abbott.

Propiconazol

El análisis estadísticos del efecto del Propiconazol en el control de la moniliasis del cacao, en condiciones de campo con incidencia baja de la enfermedad, no mostró diferencias significativas (P>0.05) donde los tratamiento de 400 y 800 mg L⁻¹ fueron estadísticamente iguales en el control de *M. royeri* (Cuadro 20) con una efectividad de 63 y 74 % respectivamente, mostrando un incremento con respecto a la efectividad alcanzada en la plantación de alta incidencia.

Cuadro 20. Efecto del Propiconazol in vivo sobre la moniliasis del cacao, en una plantación de baja incidencia.

| Fungicida | Eficiencia Abbott (% inhibición) | |
|------------------|-------------------------------------|------|
| TESTIGO | ---- ^z | ---- |
| Propiconazol 400 | 62.8 ± 2.0 | a |
| Propiconazol 800 | 74.5 ± 47.7 | a |

^y Valores con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, 0.05%)

^z Valores no calculados debido a la naturaleza de la formula de Abbott.

Análisis general de la efectividad de fungicidas sobre la moniliasis del cacao en un sistema de baja incidencia.

El testigo presentó una incidencia promedio del 34%. El análisis estadístico de todos los tratamientos y dosis evaluadas mostró diferencias significativas ($P=0.0001$) en la efectividad de los fungicidas sobre la incidencia de *M. rozeri*. Los fungicidas mostraron un comportamiento similar al obtenido en el sistema con alta incidencia, con un incremento en la efectividad a excepción del tebuconazol. El Azoxystrobin a 800 mg L^{-1} presentó la mayor eficiencia (100%) sin existir diferencias con Trifloxystrobin a 400 y 800 mg L^{-1} con 95 y 93% respectivamente. La menor efectividad fue mostrada por el tebuconazol a 400 y 800 mg L^{-1} con 25.7 y 38.7%, respectivamente.

Discusión general

El valor de cualquier compuesto químico como agente de control para enfermedades depende del modo de acción de la molécula (Reuveni y Sheglov, 2002), dosis, frecuencia y etapa de aplicación, en uno o más componentes fisiológicos del ciclo de vida del patógeno. La germinación de esporas y el crecimiento micelial son fundamentales en el ciclo de vida de *M. royeri* y en el desarrollo de la enfermedad; en este sentido, un químico que inhiba la germinación de conidios y el crecimiento micelial puede reducir la habilidad de *M. royeri* para causar la MC. En el presente estudio, los fungicidas sistémicos Azoxystrobin, Trifloxystrobin, Tebuconazol y Propiconazol inhibieron *in vitro*, el desarrollo micelial de *M. royeri* hasta un 100% en las dosis evaluadas, mostrando así la capacidad de restringir el potencial de *M. royeri* para infectar el tejido de la planta y causar la enfermedad. Aunque el Clorotalonil (fungicida de contacto) mostró efectividad del 100% en la inhibición de la germinación de conidios, su eficiencia fue menor al 70% en la inhibición del crecimiento micelial a la mayor dosis evaluada; además, de acuerdo con Murillo y Gonzales (1983) y Ram (1989) el Clorotalonil es tóxico (clase I y II) a los operadores de acuerdo con la World Health Organization (WHO)/EPA. Operadores expuestos a este fungicida se han asociado con inflamación en la piel, irritación severa en los ojos, problemas gastrointestinales. Aunque, el Clorotalonil no es tóxico para mamíferos, está clasificado en el grupo B2, el cual es considerado probablemente cancerígeno para el humano, por la Agencia de Protección al Medioambiente (Environmental Protection Agency) en E.U.A. debido a que el Hexachlorobenzeno es cancerígeno y es generado como producto durante la síntesis del ingrediente activo (Cox, 1997).

De los fungicidas evaluados en campo, las mejores respuestas fueron mostradas por Azoxystrobin, Trifloxystrobin y Tebuconazol a 800 mg L⁻¹, sin diferencias significativas entre estos productos, sin embargo, el Azoxystrobin mostro la efectividad más alta en campo (70%). Al respecto, Torres-de la Cruz (2010), reporta una efectividad del 55% cuando fue aplicado, a 1250 mg L⁻¹, sobre frutos

de 1.5 a 2 meses de edad con síntomas iniciales de deformación por *M. royeri*. Así también Solís y Suárez (2006) evaluaron el Azoxystrobin a dosis de 0.09 mg L⁻¹ con una efectividad del 54%. El Azoxystrobin presenta actividad translaminar que le confiere la capacidad de ser absorbido y distribuido localmente dentro del tejido. Inhibe la respiración mitocondrial al bloquear la transferencia de electrones al complejo citocromo bc1 (Brandt *et al.*, 1988; Anke, 1995). Esto puede explicar la efectiva acción de este fungicida sobre la incidencia de *M. royeri*.

El control químico de la MC ha sido poco empleado por antieconómico y con resultados erráticos (Desrosiers y Suárez, 1974; Suárez, 1982; González *et al.*, 1983), sin embargo, la evaluación correcta de fungicidas de diferentes grupos químicos y modo de acción, permitirá la disponibilidad de fungicidas eficientes contra *M. royeri*; así, el Azoxystrobin, Trifloxystrobin, Tebuconazol y Propiconazol se suman a otros fungicidas efectivos evaluados como son el flutolanil e hidróxido de cobre (Hidalgo *et al.*, 2003; Bateman *et al.*, 2005).

Laker y Rudgard (1989) mencionaron que existen posibles riesgos de que se acumulen residuos de compuestos químicos sistémicos en granos de cacao. Según Rouveni y Sheglov (2002) el uso de fungicidas de diferentes modos de acción puede minimizar los riesgos de desarrollo de resistencia y mejora el control enfermedades. Al respecto, Torres de la-Cruz *et al.*, (2011) y Bateman *et al.* (2005) recomiendan la aplicación de fungicidas sistémicos alternado con fungicidas de contacto y muestran la ventaja de aplicar los fungicidas sistémicos sobre frutos de cacao en los primeros 60 días de desarrollo, de acuerdo a cada flujo de amarre de frutos, seguidos por aplicaciones con Hidróxido de cobre como protectante.

6.- CONCLUSIÓN

- Los fungicidas Tebuconazol, Propiconazol, Azoxystrobin y Trifloxystrobin tuvieron la capacidad de inhibir el desarrollo micelial y la germinación conidial de *M. royeri in vitro*.
- Los fungicidas Tebuconazol, Propiconazol, Azoxystrobin y Trifloxystrobin tuvieron la capacidad de disminuir la incidencia de la moniliasis del cacao bajo condiciones de campo.
- Los fungicidas sistémicos Tebuconazol y Propiconazol inhibieron la germinación conidial y el desarrollo micelial en un 100%, a 250, 500 y 1000 mg L⁻¹, *in vitro*.
- Los fungicidas del grupo de las estrobilurinas (Azoxystrobin y Trifloxystrobin) mostraron eficiencia del 100% en la inhibición de la germinación conidial a 500 y 1000 mg L⁻¹. El Trifloxystrobin inhibió el 100% del desarrollo micelial; sin embargo, el Azoxystrobin solo alcanzó el 79% a 1000 mg L⁻¹ *in vitro*.
- El fungicida Clorotalonil (contacto) inhibió la germinación al 100% a 250, 500 y 1000 mg L⁻¹, pero solo alcanzó a inhibir el 68% del desarrollo micelial a 1000 mg L⁻¹, *in vitro*.
- Los fungicidas Azoxystrobin y Trifloxystrobin mostraron la mayor eficiencia (70 y 66% respectivamente) sobre la incidencia de *M. royeri in vivo*, en una zona de alta incidencia e incrementaron su eficiencia en una zona de baja incidencia (100 y 95%, respectivamente).
- El fungicida Azoxystrobin obtuvo la mayor eficiencia en condiciones de campo.

- Las pruebas *in vitro* sirven para seleccionar los mejores fungicidas y tratamientos en campo pero esto no garantiza que se obtengan los mismos resultados ya que las moléculas químicas actúan de forma distinta en ambientes controlados que en plantaciones.

7.- LITERATURA CITADA

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18:256-267.

Adaskaveg, J.E., Förster, H., Wade, L., Thompson, D.F., and Connell, J.H. 1999. Efficacy of sodium tetrathiocarbonate and Propiconazol in managing *Armillaria* root rot of almond on peach rootstock. *Plant Disease* 83:240-246.

AFIPA (Asociación Nacional de Fabricantes e Importadores de Productos Fitosanitarios Agrícolas). 2003. Manual Fitosanitario. Santiago, Chile. Servicio de impresión láser. 731p.

Aime, M.C., and Phillips-Mora, W. 2005. The causal agents of witches' broom and frosty pod rot of cacao (chocolate, *Theobroma cacao*) form a new lineage of Marasmiaceae. *Mycologia*, 97: 1012–1022.

Agrios, NG. 1998. Fitopatología. Departamento de Fitopatología, Universidad de Massachusetts. 2ed. UTHEA, Noriega eds. México, D.F. p. 62.

Amaya, L., Bustamante, E., Navarro, L., y Hernández, A. 1976. Estudio histopatológico de mazorcas de cacao (*Theobroma cacao* L.) infectados con el hongo *Monilia roreri* Cif y Par. *Noticias Fitopatológicas (Colombia)* 5:97- 98.

Anke, T. 1995. The antifungal strobilurins and their possible ecological role. *Canadian Journal of Botany* 73:940-945.

Anónimo 1986. Boletín Técnico. Fungicida Tilt® 250 EC. CIBA-GEIGY MEXICANA S.A. de C.V. Subdivisión Fitosanitario, México, D.F. 6p.

Aránzazu, F. 2000. Escoba de bruja en Colombia su Impacto Económico y Manejo. In: Mejía, F.L.A. y Arguello, C.O. (Compiladores). *Tecnología para el*

Mejoramiento del Sistema de Producción del Cacao. Bucaramanga, Colombia: CORPOICA. 144p.

Ayala B. M.F. 2008. Manejo Integrado de Moniliasis (*Moniliophthora roreri*) en el Cultivo de Cacao (*Theobroma cacao L.*) Mediante el Uso de Fungicidas, Combinado con Labores Culturales.. Tesis Ingeniería en Agropecuaria. Escuela Superior Politécnica de Litoral. Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción. Guayaquil, Ecuador. 115p.

Barros, N.O. 1966. Valor de las prácticas culturales como método para reducir la incidencia de Monilia en plantaciones de cacao. *Agricultura Tropical* 22:605-612.

Bartlett, D.W., Clough, J.M., Godwin, J.R., Hall, A.A., Hamer, M., Parr-Dobrzansk, B., 2002. The strobilurin fungicides. *Pest Manag. Sci.* 58: 649–662.

Bateman, R.P., Hidalgo, E., García, J., Arroyo, C., ten Hoopen, G.M., Adonijah, V., and Krauss, U. 2005. Application of chemical and biological agents for the management of frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*) in Costa Rican cocoa (*Theobroma cacao*). *Annals of Applied Biology* 147:129-138.

Bayer CropScience. Quito-Ecuador. 2010. Ficha Técnica del Producto (en línea) Quito, Ecuador. Consultado 2 Nov. 2010. Disponible en http://www.agrytec.com/agricola/images/stories/secciones/sanidad_vegetal/auspiciente/folicur.pdf .

Betalleluz, V. M. Control microbiológico de *Phytophthora infestans* en el tomate a través de hongos antagonistas (*Trichoderma harzianum*, *T. lignorum*, *T. viride* y *Gliocladium virens*) bajo condiciones controladas. Tesis (Título de Licenciado en Biología) – Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, 2003.

Brandt, U., Schägger, H., and von Jagow, G. 1988. Characterization of binding of the methoxyacrylate inhibitors mitochondrial cytochrome c reductase. *European Journal of Biochemistry* 173:499-505.

Brent KJ. 1999. Fungicide resistance in crop pathogens: How can it be managed?. Global Crop Protection Federation and Fungicide Resistance Action Committee. Monograph No. 1. London, UK. 49p.

Bonilla BT, Sandoval LI. 2002. Evaluación *in vitro* de cinco fungicidas para el control de *Sarocladium orizae*. *Fitosanidad* 6:19-21.

Bubici G., M.M. Armenduni, C. Colella, M. D' Arnico, M. Cirulli. 2006. Efficacy of acibenzolar-S-methyl and two strobilurins, Azoxystrobin and Trifloxystrobin, for the control corky root of tomato and verticillium wilt of eggplant. *Crop Protection* 25:814-820.

Bushong, P.M. and L. W. Timmer. 2000. Evaluation of Postinfection Control of Citrus Scab and Melanose with Benomyl, Fenbuconazole, and Azoxystrobin.

Torres C. M.J. 2002. Sensibilidad a fungicidas sistémicos en poblaciones de *Mycosphaerella fijensis* en plantaciones de plátanos tratadas y sin tratar con fungicidas, en Nicaragua. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR, CATIE. 87 p

Carmona, M. 2010. *Plant Disease* 84:1246-1249.

Chin., K.M., M. Wirz, and D. Lair. 2001. Sensitivity of *Mycosphaerella fijensis* from banana to Trifloxystrobin. *Plant Disease* 85:1264-1270.

Chinchilla M.C. y Mora D. 1986. Evaluación de fungicidas para el combate de *Septoria apiicola* en Apio (*Apium graveolens*). *Agronomía Costarricense*. 10(1/2):51-55.

Ciferri, R., y Parodi, E. 1933. Descrizione del fungo che causa la "Moniliasi" del cacao. *Phytopathologische Zeitschrift* 6:539–542.

Clough, J.M., and Godfrey, C.R.A. 1996. Azoxystrobin: A novel broad-spectrum systemic fungicide. *Pesticide Outlook* 7:16-20.

Cueto M.J., Aguirre M.J.F., Zamarrita C.A., Iracheta D.L. y Olivera de los Santos A. 2007. El Mejoramiento del Cultivo de Cacao (*Theobroma cacao* L.) en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Rosario Izapa, Tuxtla Chico, Chiapas, México. 250 p.

Cox, C., 1997. Chlorothalonil. *J. Pest. Reform* 17, 14–20.

Davies, C. L. 1988. Benzimidazole fungicides: mechanism of action and Resistance, pp 25-27. In: *Fungicides Resistance in North America*. Delp. J Ch. Ed. American Phytopathological Society. St. Paul Minnesota, USA.

Delgado C. J.C. Hernández., J. A. Velázquez., C. V. Ballesteros V. S.* 2005. Evaluación y validación de la efectividad biológica de cuatro fungicidas contra la Roya Amarilla del Trigo (*Puccinia striiformis* f.sp. *Tritici*) en Laguna Larga, Penjamo, Guanajuato, México. Programa de Sanidad Vegetal, SAGARPA-Gto, Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato *. Gto, Méx. 10p.

Desrosier R., and Díaz, J. 1957. The World Distribution of Diseases of Cacao. Pages 331-344. In: *Proceedings of the Sixth Meeting of the Inter-american Technical Committee of Cacao*, Salvador, Brazil.

Desrosiers R. and Suarez C. 1974. Monilia Pod Rot of Cacao. pp. 273-277 In: Gregory P.H. (ed.) *Phytophthora Diseases of Cocoa*. Logman Group, London.

Durango W. 2001. Evaluación de fungicidas y biocontroladores en el manejo de enfermedades de la mazorca de cacao. Tesis, Ing. Agr. Universidad de Guayaquil,

Ecuador. 69p.

Enríquez G.A., Brenes O., y Delgado J.C. 1982. Desarrollo e impacto de la moniliasis del cacao en Costa Rica. Proceedings of the Eighth International Cocoa research Conference. Cocoa Producer's Alliance, Cartagena, Colombia. pp. 375-380.

Enríquez, G. A. 2004. Cacao orgánico: guía para productores ecuatorianos. Manual N° 54. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. Quito. 300p.

Evans, H.C., D. F. Edwards y M. Rodriguez. 1977. Research on cocoa diseases in Ecuador: past and present. PANS (Pest Artic. News Summ.) 23: 68-80.

Evans H.C., Stalpers , R.A., Samson and G.L Benny. 1978. On the taxonomy of *Monilia rozeri*: an important pathogen of *Theobroma cacao* in South America. Canadian Journal of Botany 56:2528–2532.

Evans H., C 1981. Pod rot of cacao caused by *Moniliophthora rozeri*. London, UK: commonwealth Micological Institute. Phytopatological papers no. 24, 44 p.

Evans, H.C. 1986. A., reassessment of *Moniliophthora* (Monilia) pod rot of cocoa. Cocoa Growers' Bulletin 37:34-43.

Evans, H.C. 2002. Invasive neotropical pathogens of tree crops. p 83-112. In: Tropical Mycology. Vol. 2. Micromycetes. Watling R., Frankland J.C., Ainsworth A.M., Isaac S., and C. Robinson, eds. CABI Publishing, Wallingford, UK.

Everett, K.R., S.G. Owen and J.G.M. Cutting. 2005. Testing efficacy of fungicides against postharvest pathogens of avocado (*Persea americana* cv. Hass). New Zealand Plant Protection 58:89-95.

FAO. 2011. Food and Agriculture Organization, <http://faostat.fao.org>. Rome.

Félix-Gastélum, R., Ávila-Díaz, J.A., Valenzuela-Cota, B.O., Trigueros-Salmerón, J.A y Longoria-Espinoza, R.M. 2007. Identificación y control químico de los agentes causales de la mancha foliar y de la cenicilla del tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) en el Norte de Sinaloa, México. Revista Mexicana de Fitopatología 25:1-10.

Fernández-Ortuño D., J. A. Torés, A. De Vicente, A. Pérez-García. 2008. Mechanisms of resistance to QoI fungicides in phytopathogenic fungi. International Microbiology 11:1-9.

Flores-Mora, D.M. 1989. Estudio ultramicroscópico del proceso de infección de *Moniliophthora roreri* en frutos de cacao. Tesis Maestría en ciencias. Universidad de Costa Rica. Centro Agronómico de Investigación y Enseñanza (CATIE). Departamento de Producción Vegetal. Turrialba, Costa Rica. 84p.

FRAC, 2007 Fungicide Resistance Action Committee.

Fungicidas. (En línea). Facultad de agronomía Buenos Aires Argentina. Consultado 20 de agosto del 2010. Disponible en: <http://www.horizontea.com/s/h/?27&categoria=INVESTIGACION>.

Galindo, J.J. 1984. Programa de cacao investiga moniliasis. Actividades en Turrialba CATIE 12:8-9.

Gliessman, S.R. 2002. Agroecología: Procesos Ecológicos en Agricultura Sostenible. Ed. Litocat. Costa Rica. 369p.

González, L.C., Sánchez, J.A., Porras, V.H., Umaña, S., y Murillo, D. 1983. Evaluación del fungicida Clorotalonil y de la destrucción de mazorcas enfermas en el combate de la moniliasis del cacao. Agronomía Costarricense 7:1-7.

Griffith, W.G., Nicholson, J., Nenninger, A., Birch, N.R., and Hedger, N.J. 2003. Witches' brooms and frosty pods: two major pathogens of cacao. *New Zealand Journal of Botany* 41:423–435.

Gutiérrez-Alonso, J.G. Gutiérrez-Alonso, O., Nieto-Ángel, D., Téliz-Ortiz, D., Zavaleta-Mejía, E., Delgadillo-Sánchez, F., Vaquera-Huerta, H. 2003. Resistencia a Benomil y Tiabendazol en aislamientos de *Colletotrichum gloeosporioides* PENZ., y SACC., obtenidos de mango (*Mangifera indica* L.) en cinco regiones de México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21:260-266.

Gutiérrez-Alonso, O., y Gutiérrez Alonso, J.G. 2003. Evaluación de resistencia a Benomil, Thiabendazol y Azoxystrobin, para el control de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* PENZ.) en frutos de Guayaba (*Psidium guayava* L.) en postcosecha. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21:228-232.

Gutiérrez AJG, Gutiérrez AO, Nieto AD, Téliz OD, Zavaleta ME, Delgadillo SF. 2004. Manejo integrado de la antracnosis *Colletotrichum gloeosporioides* (PENZ y SACC.) del mango *Mangifera indica* L. durante la postcosecha. 22:395-402.

Gutierrez C.L.J., Y. Wang, E. Lutton, and B.B. M. Gardener. 2006. Distribution and Fungicide Sensitivity of Fungal Pathogens Causing Anthracnose-like Lesions on Tomatoes Grown in Ohio. *Plants Disease* 90:397-403.

Guzmán, M. Alarcon, R. 1997. Establecimiento de metodología de evaluación de fungicidas *in vitro* y screening de 23 fungicidas promisorios para el control de la mancha marrón del arroz. Trabajo de grado para optar por el título de Microbiólogo Industrial. Pontificia Universidad de Javeriana. Facultad de ciencias Básicas. Bogotá.

Hamdy, B. 2007. Review of strobilurin fungicide chemicals *Journal of Environmental Science and Health* 42:441-451.

Hernández CFD, Aguirre AA, Lira SRH, Guerrero RE, Gallegos MG. 2006. Bioeficacia de productos orgánicos, biológicos y químicos contra *Alternaria dauci* Kühb y su efecto en el cultivo de zanahoria. Revista internacional de Botánica Experimental ΦYTON. 75:91-101.

Hernández MAA, Muiño GBL, Rosón AC, Casola GC, Porras GAC, López MA. 2010. Control químico de patógenos fúngos en Piña (*Anana comosus* (L.) Merrill de vivero (II). Fitosanidad. 14:235:239.

Herrera-Pérez, T. y Samaniego-Gaxiola, J. 2002. Enfermedades del nogal. pp. 177-206. En: J. Arreola-Ávila e I. Reyes-Juárez (eds.). Tecnología de Producción del Nogal Pecanero. Campo Experimental La Laguna. INIFAP. Matamoros, Coahuila, México. 220p.

Hidalgo. E., Bateman, R.P., Krauss, U., ten Hoopen, M., and Martínez, A. 2003. A field investigation into delivery systems for agents to control *Moniliophthora roreri*. European Journal of Plant Pathology 109:953-961.

INIAP, 1996. (Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias). Estación Experimental Tropical Pichilingue. Departamento Nacional de Protección Vegetal. Informe técnico 1993-1995. Quevedo- Ecuador.

Jones, D. 2000. Disease of banana, Abacá and Enset. CAB International, Wallington, UK. 544p.

Katip, J.Y. 1994. Prospección y estudio de la moniliasis (*Moniliophthora roreri* (Cif. y Par.) Evans *et al.*), del cacao en la cuenca del río Marañón. Tesis Ing. Agr. Tingo María, Perú: UNAS. 94p.

Krauss U. & Soberanis W. 2001 Rehabilitation of diseased cacao fields in Peru through shade regulation and timing of biocontrol measures. *Agroforestry System* 53, 179-184.

Krauss, U; ten Hoopen, M; Hidalgo, E; Martínez, A; Arroyo, C; García, J; Portugués, A; Palacios, M. 2003. Biocontrol of moniliasis (*Moniliophthora roreri*) and black pod (*Phytophthora spp.*) in Panama with mycoparasites in two formulations. In 4th INCOPEL Seminar. Proceedings. Accra, Ghana, 19-22 Oct.2003. P.53-58. CACAO, P. irr.

Laker, H.A., and Rudgard, S.A. 1989. A review of the research on chemical control of witches' broom disease of cocoa. Cocoa Growers' Bulletin, 42:12–24.

Laker, H.A. 1991. Evaluation of systemic fungicides for control of witches' broom disease of cocoa in Trinidad. Tropical Agriculture 68:119–124.

López BA, López BSR, Vázquez BME, Rodríguez HSA, Mendoza EM, Padrón BC. 2005. Inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* Schlechtend F. sp. *Lycopersici* (sacc.) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Verticillium dahliae* Kleb, mediante extractos. Revista Mexicana de Fitopatología. 23:183-190.

López, R. 1954. Fisiología de la germinación de esporas de *Monilia* sp. Cacao en Colombia 3:183-207.

López, A. 1998 Novartis Agro S.A., Control de enfermedades con fungicidas.

Maddison, A.C., Macias, G., Moreira, C., Arias, R., and Neira, R. 1995. Cocoa production in Ecuador in relation to dry-season escape from pod rot caused by *Crinipellis perniciosus* and *Moniliophthora roreri*. Plant Pathology 44:982–998.

Marín, D y Romero, R. 1992. El combate de la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*). In: Boletín No. 4 Departamento de Investigaciones. CORBANA San José, Costa Rica.

Mendoza, Z. C. 1990. Fungicidas sistémicos y su modo de acción. Depto., de Parasitología Agrícola, UACH, Chapingo, Méx.

McGrrath M.T. 2001. Fungicide resistance in cucurbit powdery mildew: experiences and challenges. *Plant Disease* 85:236-245.

Miller, T. C., and W. D. Gubler. 2004. Sensitivity of California isolates of *Uncinula necator* to Trifloxystrobin and spixamine, and update on triadimefon sensitivity. *Plant Disease* 88:1205-1212.

Mogollon OA, Castaño ZA. 2011. Efecto de inductores de resistencia en plántulas de plátano Dominic-Hartón (*Musa balbisiana* AAB contra *Mycosphaerella spp.* *Acad. Colomb. Cienc.* 35(137):463-471.

Moshe, R. 2001. Activity to Trifloxystrobin against powdery and downy mildew diseases of grapevines. *Canadian Journal of Plant Disease*.

Morales R, 2001. Frecuencia de aplicaciones del fungicida Clorotalonil 82.5 para el manejo de *Phytophthora infestans* en tres variedades de papa. *Revista Latinoamericana de la papa* 12:49-56.

Murillo, D., y González, L.C. 1984. Evaluación en laboratorio y campo de fungicidas para el combate de la moniliasis del cacao. *Agronomía Costarricense* 8: 83-89.

Nájjar T. y Thomas S. 2001. El efecto de los microorganismos eficaces en la supresión del hongo *Moniliophthora roreri* bajo condición de laboratorio y campo con inoculación artificial. Lic. Guacimo, Costa Rica. Universidad Earth. 60 p

López N. MC. 2010. Tratamientos postcosecha en el control de antracnosis y calidad de frutos de Papaya “Maradol”. Maestra en Ciencias. Montecillos, Texcoco, EDO de México, México. Colegio de Postgraduados. 89p.

Ochoa, D. 2004. Determinación de los niveles de sensibilidad en aislamientos colombianos de *Phytophthora infestans* hacia tres fungicidas comúnmente utilizados en su control. Trabajo de grado para optar por el título de Microbiólogo Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de ciencias Básicas.

OEIDRUS., 2009. Oficina estatal de información para el desarrollo rural sustentable en el Estado de Tabasco. www.oeidrustab.gob.mx. Tabasco, México.

Ogata, N. 2007. El cacao. *Biodiversitas* 72:1-5.

Orozco-Santos M. Comp. 2008. Nuevos Mecanismo de acción de Fungicidas en la Agricultura: Clasificación de Fungicidas (en línea). Mazatlan, Sinaloa; Méx. INIFAP. Consultado el 08 oct. 2010. Disponible en: [http://www.bayercropscience.com.mx/bayer/cropscience/bcsmexico.nsf/files/extranet/\\$file/MODOS%20DE%20ACCION%20DE%20FUNGICIDAS.pdf](http://www.bayercropscience.com.mx/bayer/cropscience/bcsmexico.nsf/files/extranet/$file/MODOS%20DE%20ACCION%20DE%20FUNGICIDAS.pdf)

Ortiz Barrera, R. 1989. Manejo de la resistencia a Fungicidas. México, CIBA-GEIGY.

Patiño, L. Rodríguez, M. 2001. Aislamiento e identificación de hongos fitopatógenos y evaluación de fungicidas frente a los hongos más relevantes en vid (*vitis vinífera*), variedad chardonnay en el viñedo san Martín en el municipio de Sogamoso, departamento de Boyacá. Trabajo de grado para optar por el título de Microbiólogo Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de ciencias Básicas.

Pérez-Moreno, L., Villalpando-Mendiola, J.J., Castañeda-Cabrera, C. y Ramírez-Malagón, R. 2009. Sensibilidad *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* Saccardo, a los fungicidas comúnmente usados para su combate. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 27:11-17.

Pérez M, Rebullido R, Pérez L. 2004. Líneas base de sensibilidad de las

poblaciones de *Mycosphaerella fijensis* Morelet de Cuba, a los fungicidas Azoxystrobin y Trifloxystrobin. *Fitosanidad* 8:41-47.

Phillips, W. 1986. Evaluacion de Resistencia a cultivares de cacao a *Moniliophthora roreri*. Turrialba, Costa Rica, CATIE. Magister. 100p.

Phillips-Mora, W., 2003. Origin, biogeography, genetic diversity and taxonomic affinities of the cacao (*Theobroma cacao* L.) fungus *Moniliophthora roreri* (Cif.) Evans *et al.* as determined using molecular, phytopathological and morpho-physiological evidence. Ph.D. Thesis. University of Reading, Reading, UK. 349p.

Phillips-Mora, W. 2004. La moniliasis del cacao: una seria amenaza para el cacao en México. In: Simposio Nacional sobre enfermedades tropicales. Resúmenes de ponencias. Tabasco, México.

Phillips-Mora, W., Castillo, J., Krauss, U., Rodriguez, E., and Wilkinson, J., 2005. Evaluation of cacao (*Theobroma cacao*) clones against seven Colombian isolates of *Moniliophthora roreri* from four pathogen genetic groups. *Plant Pathology* 54:483-490.

Phillips-Mora, W., Coutiño, A., Ortiz, C.F., López, A.P., Hernández, J., and Aime, M.C. 2006a. First report of *Moniliophthora roreri* causing frosty pod rot (moniliasis disease) of cocoa in Mexico. *Plant Pathology* 55:584.

Phillips-Mora, W., and Wilkinson, M.J. 2007. Frosty pod of cacao: A disease with a limited geographic range but unlimited potential for damage. *Phytopathology* 97:1644-1647.

Phillips-Mora, W., Ortiz, C.F, and Aime, M.C. 2007. Fifty years of frosty pod rot in Central America: Chronology of its spread and impact from Panama to Mexico. *Proceedings of the 15th International Cocoa Research Conference, Vol. I*, pp. 1039-1047.

Ponce GF, García AMG, Lozoya SH, Herrera ST. 2002. Resistencia de *Botrytis cinérea* (Pers.) Fr. a dos fungicidas Benzimidazoles utilizados en la Floricultura. Revista Chapingo Horticultura 8(1):95-105.

Porras, V; Sánchez, J. 1991. Enfermedades del cacao. Fundación Hondureña de Investigación Agrícola. La Lima, Cortes, Honduras.

Porras, V.H. and Enríquez, G. 1998. Spread of monilia pod rot of cocoa through Central America. IICA, San José, Costa Rica. 20p.

Ram, A. 1989. Biology, epidemiology and control of moniliasis (*Moniliophthora roreri*) of cacao. PhD Thesis, University of London, London. 313 pp.

Ramirez, D.F.J. 1997. Sistema Agroindustrial Cacao en México y su Comportamiento en el Mercado. UACH, Chapingo, Mex. 161p.

Ramos, G. 1989. Evaluación de tres fungicidas sistémicos (Tilt, Tecto 60, Topas) inyectados al suelo para el control de la pudrición Texana *Phymatotrichum omnivorum* (SHEAR) DUGGAR, En Nogal Carya Illinois (WONG) KOCH, E n Marin , N,L. TESIS DE Licenciatura. Universidad de Nuevo León Facultad de Agronomía.

Rangel, J.F. 1982. Desenvolvimento e participação. CEPLAC-CACAU. Año 25. Instituto Interamericano para la Cooperación con la Agricultura. Brasilia. Brasil. 138p.

Reuveni, M., and Sheglov, D. 2002. Effects of azoxystrobin, difeconazole, polyoxin B (polar) and Trifloxystrobin on germination and growth of *Alternaria alternata* and decay in red delicious apple fruit. Crop Protection 21:951-955.

Roberts, D.A. y Boothroyd, C.W. 1972. Fundamentos de la Patología Vegetal. Ed. Acribia. España. 392p.

Robinson, R.A. 2005. Self-Organizing Agro-Ecosystems. 2nd ed. Sharebooks Ed. Canada. 518p.

Rorer, JB. 1926. Ecuador cacao (Parte 2). Tropical Agriculture , Trinidad 3:68-69.

Rui SJFM, da Costa REM, Marinho GHS, Nunes JÁ, Filho VS, Miranda. 2004. Utilização de Azoxystrobina no Controle da Antracnose da Mangueira. Fitopatología Brasileira 29: 193 -196.

Reuveni M. and Sheglov D. 2002. Effects of azoxystrobin, difeconazole, polyoxin B (polar) and Trifloxystrobin on germination and growth of *Alternaria alternata* and decay in red delicious apple fruit. Crop Protection 21:951-955.

Sánchez J. 1982. Reducción de cultivares de cacao a la inoculación artificial con *Monilia roleri*. Edit. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza Departamento de Producción Vegetal (CATIE). Turrialba, Costa Rica. 55p.

Sánchez J.A., y González, L.C. 1989. Metodología para evaluar la susceptibilidad a moniliasis en cultivares de cacao (*Theobroma cacao*). Turrialba 39:461-468.

Sánchez F., E. Gamboa & J. Rincón. 2003. Control químico y cultural de la moniliasis (*Moniliophthora roleri* Cif & Par) del cacao (*Theobroma cacao* L) en el estado de Barina states. Fac. Agron. (LUZ). 20:188-194.

Santamaría BF, Díaz PR, Gutiérrez AO, Santamaría FJ, Larqué SA. 2011. Control de dos especies de *Colletotrichum* causantes de antracnosis en frutos de papaya maradol. Revista Mexicana de Ciencias Agrícola 2:631-643.

SAS Institute Inc., 1988. SAS User's Guide: Statistics. Release 6.03 Ed. SAS Institute INC. Cary, NC. USA. 1028p.

Sheinpflug, H. and Kuc K. W. 1987. Sterol biosynthesis inhibiting piperazine, pyredine, pyrimidine y azole fungicides In : Lyr, H(De.): Modern selective

fungicide properties , applications, Mechanics of action. Longman group. UK. Lta., London, and VEB Gustav Fisher Verlag, Jena. Pp. 173-204.

Scherr, S.J. 1983. Resolving the agriculture-petroleum conflict: The experiences of cocoa smallholders in Mexico. Department of agricultural Economics. Cornell University. Ithaca, New York. 233p.

Smith, F.D; Parker, D.M; Köller, W. 1991. Sensitivity distribution of *Venturia inaequalis* to Sterol Demethylation Inhibitor Flusilazole: Baseline sensitivity and implications for resistance monitoring. *Phytopathology* 81:392-396.

Solís HK, Suarez CC.2006. Uso de *Trichoderma spp.* para el control del complejo Moniliasis-Escoba de Bruja del cacao en Ecuador. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Tropical y 93-98 p.

Suárez, C. 1971. Estudio del mecanismo de penetración y proceso de infección de *Monilia roreri* Cif y Par. en frutos de cacao (*Theobroma cacao* L.) Tesis Ing. Agr. Universidad de Guayaquil, Ecuador. 59p.

Sundravadana S., D. Alice, S. Kuttalam, and R. Samiyappan. 2007. Efficacy of Azoxystrobin on *Colletotrichum gloeosporioides* Penz growth and on controlling mango anthracnose. *Journal of Agricultural and Biological Science* 2:10-15.

Terao D. S. M.A De Oliveira F. M. P. Vianal, A.G. Rossetti and C. C.M. de Souza. 2006. Integração de Fungicidas à Refrigeração no Controle de Podridão Pós-Colheita em Frutos de Meloeiro. *Fitopatologia Brasileira* 31:89-93.

Terralia, España1997. Sitio web (en línea) Madrid, España. Consultado 10 octubre 2010. Disponible en http://www.terralia.com/agroquimicos_de_mexico

Thomson, W.T. 1997. Agricultural Chemicals. Book IV: Fungicides. 12th edition. Thomson Publications, Fresno, CA.

Tomlin, C.D.S. 2000. The Pesticide Manual, 12th Edition. British Crop Protection Council (BCPC), Berkshire, UK. 1250p.

Torres E, Iannacone J, Gómez H. 2008. Biocontrol del moho foliar del Tomate *Cladosporium fulvum* empleando cuatro hongos antagonistas. *Bragantia*, Campinas. 67:169-178.

Torres- de la Cruz M. 2010. Progreso temporal y manejo integrado de la moniliasis (*Moniliophthora roreri* (Cif y Par.) *Evans et al.*) del cacao (*Theobroma cacao*) en Tabasco, México. Evaluación del Azoxystrobin sobre el hongo *Moniliophthora roreri*, causa de la moniliasis del cacao (*Theobroma cacao*). Tesis Doctoral. Posg. de Fitosanidad Fitopatología. Montecillo, México. Colegio de Posgraduados. 86p.

Torres-de la Cruz M, Ortiz-García CF, Téliz-Ortiz D, Mora-Aguilera A. and Nava- Díaz C. 2011. Temporal progress and integrated management of frosty pod rot [*Moniliophthora roreri* (Cify Par.) *Evans et al.*] of cocoa (*Theobroma cacao*) in Tabasco, Mexico. *Journal of Plant Pathology* 93:31-36.

Tun SJM, Castillo PME, Cristóbal AJ, Latoumerie ML. 2011. Etiología de la mancha foliar del chile dulce (*Capsicum annuum* L.) y su control *in vitro* en Yucatán, México. *Fitosanidad* 5:5-9.

Umaña, S. y González, L.C.1981. Método para medir germinación de conidios de *Monilia roreri* y su inhibición por fungicidas *in vitro*. In Resúmenes, primeras jornadas de investigación, universidad de costa rica, San José, 1981. 25-26 p.

Van Tuyl JM. 1977. Genetics of fungal resistant to systemic fungicides. *Meded. Landb. Hogesh. Wageningen* 77: 121-137.

Villeda M.H.Y. 1998. Evaluación de cuatro fungicidas sistémicos para el control

de la roya de la hoja del trigo (*Puccinia triticina* Ericks) en el valle del Yaqui, Sonora y el Batán Edo., de México. Tesis de Licenciatura Ing. Agr. Esp. Parasitología Agrícola. Universidad autónoma de Chapingo 63p.

Whitlock, B., Bayer, C., y Baum, D. 2001. Phylogenetic relationships and floral evolution of the Byttnerioideae ("Sterculiaceae" or Malvaceae s.l.) based on sequences of the chloroplast gene *ndhF*. *Systematic Botany* 26:240-437.

Whitson, R.S., and Hine, R.B. 1986. Activity of Propiconazol and other sterol-inhibiting fungicides against *Phymatotrichum omnivorum*. *Plant Disease* 70:130-133.

Wong, F. P., and W. F. Wilcox. 2001. Comparative physical modes of action of azoxystrobin, Mancozeb and metalaxyl against *Plasmopara viticola* (grapevine downy mildew). *Plant Disease* 85:649-656.

Wood, G.A.R. 1975. Cacao. Ed. C.E.C.S.A. México. 363p.

Wood, G.A.R. y Lass R. A. 1985. Cocoa. 4 ed. Cornwall, UK: Blackwell Science, 620p.

Zavala-León, M.J., Tun-Suárez, J.M., Cristóbal-Alejo, J., Ruíz-Sánchez, E., Gutiérrez-Alonso, O., Vázquez-Calderón, M., y Méndez-González, R. 2005. Control postcosecha de la antracnosis en papaya y sensibilidad de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. a fungicidas organosintéticos. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 11:251-255.

Zhang, J., and L.W. Timmer. 2007. Preharvest application of fungicides for postharvest disease control on early season tangerine hybrids in Florida. *Crop Protection* 26:886-893.

Zuber PMM, Nakano Marahieo MA. 1993. Peptide antibiotics. In: *Bacillus*

subtilis and other Gram-positive bacteria, biochemistry, physiology and molecular genetics. AL Sonenshein (ed.) Washington, D. C. American Society for Microbiology 897.