



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

**POSGRADO DE FITOSANIDAD
FITOPATOLOGÍA**

**PROGRESO TEMPORAL Y MANEJO INTEGRADO
DE LA MONILIASIS [*Moniliophthora roreri* (Cif y
Par.) Evans *et al.*] DEL CACAO (*Theobroma cacao*) EN
TABASCO, MÉXICO**

MAGDIEL TORRES DE LA CRUZ

T E S I S

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

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

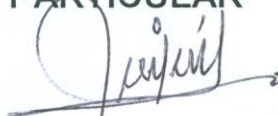
2010

La presente tesis titulada: **Progreso temporal y manejo integrado de la moniliasis [Moniliophthora roreri (Cif y Par.) Evans et al.] del cacao (Theobroma cacao) en Tabasco, México**, realizada por el alumno: **Magdiel Torres de la Cruz**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS
FITOSANIDAD
FITOPATOLOGÍA**

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



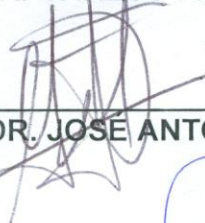
DR. DANIEL TELIZ ORTÍZ

DIRECTOR DE TESIS:



DR. CARLOS FREDY ORTÍZ GARCÍA

ASESOR:



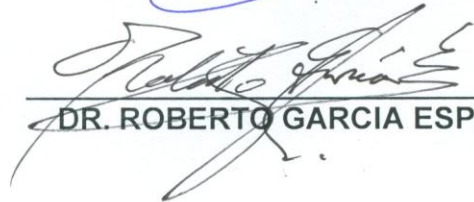
DR. JOSÉ ANTONIO MORA AGUILERA

ASESOR:



DR. CRISTIAN NAVA DÍAZ

ASESOR:



DR. ROBERTO GARCÍA ESPINOZA

Montecillo, Texcoco, Estado de México. Junio de 2010

PROGRESO TEMPORAL Y MANEJO INTEGRADO DE LA MONILIASIS
[*Moniliophthora roreri* (Cif y Par.) Evans et al.] DEL CACAO (*Theobroma cacao*) EN
TABASCO, MÉXICO

Magdiel Torres de la Cruz, Dr.
Colegio de Postgraduados, 2010

RESUMEN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es uno de los principales recursos agrícolas de Tabasco, México. En abril del 2005, se reportó la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao en Tabasco; para 2007, la enfermedad había invadido todas las regiones productoras del estado, convirtiéndose en la principal limitante parasítica. En la presente investigación se estudió el progreso temporal de la moniliasis en Tabasco, se evaluó al azoxystrobin como agente curativo de *M. roreri*, y evaluó un programa de manejo integrado. El progreso temporal se obtuvo por estimación del porcentaje de frutos enfermos en tres ritmos productivos en el ciclo de producción 2008-09. *M. roreri* se identificó morfológica y molecularmente (numero de acceso GenBank: GU108605). El azoxystrobin fue evaluado *in vitro* sobre el desarrollo micelial y germinación de conidios, así como *in vivo* sobre frutos juveniles (≤ 7 cm de longitud), con infección natural. Se comparó un Manejo Tradicional (MT) con un Manejo Integrado del Cultivo (MIC) en dos sistemas de sombra (50 y 70 %). Tres epidemias anuales resultaron con pérdidas de producción superiores al 70 %. Las epidemias se asociaron con temperaturas de 20-26.9 °C ($r=0.76$) y humedad relativa mayor a 90 % ($r=0.76$), 49 días antes de la aparición de los síntomas. La enfermedad se relacionó con la densidad de esporas (esporas/ semana/ mes) de *M. roreri* en el aire 38 días antes de la muerte del fruto ($r=0.74$). La densidad de conidios en el aire se asoció positivamente con temperatura $> 35^{\circ}\text{C}$ ($r=0.78$) y humedad relativa menor al 60 % ($r=0.76$). Los conidios en el aire se capturaron durante todo el año, sin embargo, la mayor densidad se presentó en la época seca (abril-mayo). El azoxystrobin, *in vitro* inhibió el 100 % de la germinación de conidios a 450 ppm y el 96 % del crecimiento micelial a 1250 ppm. La concentración efectiva 95 (CE₉₅) para la germinación conidial y el crecimiento micelial fue de 138 y 1203 ppm, respectivamente. A 1250 ppm obtuvo, *in vivo*, una efectividad terapéutica de 55 %. Este es el primer reporte de la acción

curativa de un fungicida sobre *M. royeri*. El tratamiento MIC con 50 % de sombra mostró una efectividad de protección del 90 %. Los resultados muestran la conveniencia del manejo independiente de las epidemias y la ventaja de la aplicación de las medidas de control integrado evaluadas.

Palabras claves: Epidemiología, frosty pod rot, manejo integrado, control químico, efecto curativo.

**TEMPORAL PROGRESS AND INTEGRATED MANAGEMENT OF FROSTY POD
ROT [*Moniliophthora roreri* (Cif y Par.) Evans *et al.*] OF COCOA (*Theobroma cacao*) IN
TABASCO, MEXICO**

Magdiel Torres de la Cruz, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2010

ABSTRACT

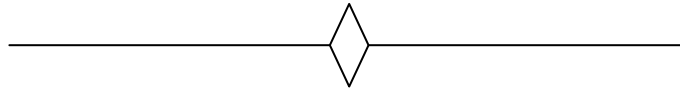
Cocoa (*Theobroma cacao*) is one of the principal agricultural resources of Tabasco, Mexico. Frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*) was reported for the first time in Tabasco in April of 2005; by 2007, this disease had invaded all of the cocoa producing zones of the state, becoming its principal parasitic limitation. The temporal progress of frosty pod rot in Tabasco, the evaluation of azoxystrobin as a curative fungicide, and an integrated management program were studied. The temporal progress was obtained through the estimation of the percentage of diseased fruits in three fruit flushes in the production cycle of 2008-09. *Moniliophthora roreri* was morphological and molecularly confirmed (GenBank accession number: GU108605). Azoxystrobin was evaluated *in vitro* on spore germination and on mycelial development of the fungus; its curative effect was evaluated *in vivo* on fruits naturally infected up to seven cm long. A regional management was compared to an Integrated Crop Management (ICM) in two systems of shade (50 and 70%). Three annual epidemics occurred with production losses over 70%. The epidemics were associated with temperatures of 20-26.9 °C ($r=0.76$) and relative humidity higher than 90% ($r=0.76$), 49 days prior to the appearance of the symptoms. The disease was related with air-spore (spore/week/month) of *M. roreri* 38 days prior to the pod death ($r=0.74$). Density of spores in the air was associated with temperature $> 35^{\circ}\text{C}$ ($r=0.78$) and relative humidity lower than 60% ($r=0.76$). Spores were captured throughout all the year; nevertheless, higher density occurred in the dry season (april-may). Azoxystrobin 450 ppm *in vitro* inhibited conidial germination 100%, and at 1250 ppm inhibited 96 % of micelial growth. The effective concentration 95 (EC₉₅) for germination and micelial growth was 138 and 1203 ppm, respectively. Azoxystrobin to 1250 ppm had a therapeutic effectiveness *in vivo* of 55 %. This is the first report of the curative action of a fungicide on *M. roreri*. The ICM treatment with 50% shade showed a protection effectiveness of 90 %. The results showed the

convenience of independent management of the epidemics and the advantage of the integrated control measures.

Key words: Epidemiology, moniliasis, integrated crop management, chemical control, curative effect.

Dedicatoria

*Al Dios que hizo el mundo y todas las cosas que en él hay,
y siendo señor del cielo y de la tierra nos ama;
porque él es quien da a todos vida, aliento y todas las cosas,
porque en él vivimos, nos movemos y somos.*



*A mi esposa Esmeralda, a mi hija Addy Vianey
y a mi hijo Sem Jafet, con mucho amor.*

AGRADECIMIENTOS

A mi país, México, el cual por medio del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) me otorgó el apoyo financiero para realizar mis estudios doctorales.

Al Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, por abrir sus puertas para mi formación profesional.

Al Dr. **Carlos Fredy Ortiz García**, por la dirección acertada de la presente investigación.

A Dr. **Daniel Téliz Ortíz**, por ser mi consejero durante mi formación doctoral, por su amistad, confianza y apoyo.

Al Dr. **José Antonio Mora Aguilera**, por su acertada asesoría, amistad y apoyo.

Al Dr. **Cristian Nava Díaz**, por su acertada asesoría, amistad y apoyo incondicional.

Al Dr. **Roberto García Espinoza**, por compartir sus conocimientos y por su amistad.

Al Dr. **Gustavo Mora Aguilera**, por compartir sus conocimientos y por su incondicional apoyo en la planeación inicial de la presente investigación.

A la Dra. **Luz del C. Lagunez Espinoza**, por su asesoría y apoyo incondicional para la medición de Radiación Fotosintéticamente Activa.

Al MC. **Arnulfo Triano Sánchez**, por su amistad, y apoyo incondicional en el trabajo de campo.

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

A los que fueron mis maestros: **Emma Zavaleta, Daniel Nieto, Maria de Jesús Yanes, Daniel Ochoa, Reyna Rojas, Daniel Téliz, Carlos de León, Roberto García y Gustavo Mora**, por los conocimientos transmitidos, amistad y apoyo.

A mis padres **Miguel Torres y María de la Cruz**, por enseñarme a ser un hombre de bien.

A mis hermanos: **Cecy, Naty, Neke, Abel y Miguel**, por su amistad y apoyo.

A mis compañeros y amigos con los cuales he compartido buenos y malos momentos: **Paco, Nadia, Chino, Luz, Alejandra y Pedro (Huachala-Ho)** ¡Que Dios los bendiga a todos!

A todos los que directa e indirectamente contribuyeron en la realización de este trabajo, mi sincero agradecimiento.

CONTENIDO

RESUMEN.....	ii
ABSTRACT.....	iv
ÍNCIDE DE CUADROS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
El cacao, origen e importancia.....	3
Clasificación taxonómica del cacao.....	5
Morfología del cacao.....	6
Cultivo del cacao en Tabasco.....	8
Limitantes fitosanitarias del cacao.....	10
La moniliasis del cacao, origen y distribución.....	11
Importancia económica de <i>Moniliophthora roreri</i>	12
Taxonomía de <i>M. roreri</i>	13
Morfología básica de <i>M. roreri</i>	14
Ciclo de vida de <i>M. roreri</i>	15
Hospederos de <i>M. roreri</i>	15
Síntomas de la enfermedad.....	16
Condiciones favorables.....	19
Fuente de inóculo y mecanismos de dispersión.....	19
Procesos de preinfección e infección.....	20
Control de la moniliasis.....	20
Ocurrencia de la moniliasis en México.....	23
Estudio temporal de la enfermedad.....	24
Manejo Integrado de Plagas.....	26
Literatura citada.....	27

CAPÍTULO III. EVALUACIÓN DEL AZOXYSTROBIN SOBRE	
<i>Moniliophthora roreri</i>, CAUSANTE DE LA MONILIASIS DEL	
CACAO (<i>Theobroma cacao</i>)	38
Resumen.....	38
Abstract.....	39
Introducción.....	40
Materiales y métodos.....	42
Resultados y discusión.....	45
Literatura citada.....	51
CAPÍTULO IV. PROGRESO TEMPORAL Y MANEJO INTEGRADO	
DE LA MONILIASIS (<i>Moniliophthora roreri</i>) DEL CACAO	
(<i>Theobroma cacao</i>) EN TABASCO, MÉXICO	55
Resumen.....	55
Abstract.....	56
Introducción.....	57
Materiales y métodos.....	58
Resultados y discusión.....	63
Literatura citada.....	74
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN GENERAL	79
Conclusiones generales.....	83
Literatura citada.....	84

ÍNDICE DE CUADROS

CAPÍTULO III		Pag.
Cuadro 1.	Efecto del azoxystrobin sobre la germinación y el desarrollo micelial <i>in vitro</i> de <i>Moniliophthora roreri</i> aislado de cacao en Tabasco, México. 2008.....	46
Cuadro 2.	Efecto terapéutico del azoxystrobin aplicado sobre frutos de cacao de ≤ 2 meses de edad, en etapa temprana de infección natural por <i>Moniliophthora roreri</i> , en Tabasco, México. 2008.....	48
CAPÍTULO IV		
Cuadro 1.	Calendario agronómico comparativo anual de las técnicas de manejo integrado (MIC) y tradicional (MT).	61
Cuadro 2.	Parámetros epidemiológicos de curvas del progreso temporal de epidemias de moniliasis del cacao.....	64
Cuadro 3	Efecto de tratamientos sobre los parámetros del progreso temporal de epidemias de moniliasis del cacao.....	67
Cuadro 4	Efecto de la sombra sobre los parámetros del progreso temporal de epidemias de moniliasis del cacao.....	68

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO	II	Pag.
Figura 1	Producción mundial del cacao en grano por país, 2008.....	4
Figura 2.	Ubicación del estado de Tabasco en la República Mexicana y distribución de las plantaciones de cacao en Tabasco, México.....	8
Figura 3.	Producción de cacao en grano por municipio, en Tabasco, México, 2008.....	9
Figura 4.	Probable diseminación cronológica la moniliasis del cacao en América.....	12
Figura 5.	Estructuras morfológicas de <i>Moniliophthora roreri</i> mostrando micelio septado y esporas con pared gruesa.....	14
Figura 6.	Ciclo de vida de <i>Moniliophthora roreri</i>	16
Figura 7.	Síntomas y signos de <i>Moniliophthora roreri</i> sobre frutos de cacao.....	18
Figura 8.	Avance de la moniliasis en Tabasco, México desde abril 2005 a abril 2007.....	24
CAPÍTULO		
III		
Figura 1.	Efecto del azoxystrobin sobre el porcentaje (%) de frutos de cacao (<i>Theobroma cacao</i>) infectados por <i>Moniliophthora roreri</i> en Tabasco, México. 2008.....	48
Figura 2.	Apariencia externa e interna de frutos de cacao tratados con azoxystrobin y que alcanzaron madurez de consumo.....	49

CAPÍTULO	IV	Pag.
Figura 1.	Curvas del progreso temporal de epidemias de moniliasis (<i>Moniliophthora roreri</i>) del cacao (<i>Theobroma cacao</i>) en una plantación con manejo tradicional en Tabasco, México, durante un año de producción. CH = Chilillos (frutos juveniles). (2008-2009).....	63
Figura 2.	Curvas del progreso temporal de epidemias de moniliasis (<i>Moniliophthora roreri</i>) del cacao (<i>Theobroma cacao</i>), en Tabasco, México. MT = Plantación con manejo tradicional y MIC = Plantación con manejo integrado. (2008-2009).....	66
Figura 3.	Curva del progreso temporal promedio de la epidemia de moniliasis (<i>Moniliophthora roreri</i>) del cacao (<i>Theobroma cacao</i>) y ciclos de infección en una plantación con manejo tradicional en Tabasco, México, durante un año de producción (2008-2009).....	68
Figura 4.	Ciclo de la enfermedad moniliasis (<i>Moniliophthora roreri</i>) del cacao (<i>Theobroma cacao</i>) en Tabasco, México, 2008.....	71
Figura 5.	Curvas del progreso temporal de subepidemias de moniliasis (<i>Moniliophthora roreri</i>) del cacao (<i>Theobroma cacao</i>) y ciclos de infección en una plantación con manejo tradicional en Tabasco, México, durante un año de producción. CH = Chilillos (frutos juveniles). (2008-2009).....	72

CAPÍTULO I.

INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es un árbol nativo de la selva tropical húmeda americana, particularmente de la cuenca amazónica (Whitlock *et al.*, 2001) región considerada como su centro de origen (Cuatrecasas, 1964), y ha sido un importante componente de la cultura y comercio en Mesoamérica desde tiempos precolombinos (Phillips-Mora *et al.*, 2007). El primer cultivo del cacao tomó lugar en el norte de Centroamérica y las tierras bajas de México hace 2,000 años (Cheesman, 1944). Actualmente el cacao es cultivado en 7,983,625 ha de tierras tropicales en el mundo (FAO, 2009) y es a menudo cultivado como un componente de agroecosistemas complejos que provee beneficios económicos y ecológicos tanto a los campesinos como a los países donde se produce (Wood y Lass, 1985).

En muchos países de América la producción de cacao es limitada por tres principales enfermedades fungosas: Mazorca negra (*Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. y/o *P. capsici* Leonian); Escoba de bruja [*Moniliophthora (=Crinepellis) perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora]; y la Moniliasis del cacao (MC) [*Moniliophthora roreri* (Cif. y Par.) Evans *et al.*] (Leach *et al.*, 2002). La MC ha sido reportada como dos veces más destructiva que mazorca negra y más dañina y de difícil control que la escoba de bruja (Aranzazu, 2000). Las pérdidas que causa varían desde 10 hasta 100% (Rorer, 1926; Katip, 1994), lo que en algunos países ha conducido al abandono total de las plantaciones (Krauss y Soberanis, 2001; Enríquez *et al.*, 1982).

En México, la producción de cacao se concentra en cuatro estados: Tabasco (70%), Chiapas (29%), Oaxaca y Guerrero (1.0%). En Tabasco, el cacao constituye 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). La enfermedad más importante del cacao hasta el año 2005 era la mancha negra causada por *P. capsici* (Ortiz, 1996). Sin embargo, en abril del 2005, cuando se registró por primera vez la MC y en dos años invadió todas las regiones productoras de cacao de Tabasco (CESVETAB-SAGARPA, 2007), *M. roreri* se convirtió en su principal limitante parasítica.

En base a la importancia del cultivo del cacao en Tabasco y de la importancia de la moniliasis como principal limitante fitosanitaria, fue necesario diseñar estrategias de manejo de la enfermedad aplicables a las zonas cacaoteras de la entidad, por lo que en la presente investigación se plantearon los siguientes objetivos e hipótesis:

Objetivos

1. Conocer la epidemiología de la moniliasis del cacao en Tabasco.
2. Evaluar al azoxystrobin como agente curativo en mazorcas de cacao infectadas por *Moniliophthora roreri*, en etapas tempranas de desarrollo.
3. Reducir la intensidad de la enfermedad a un nivel de bajo impacto ambiental y socioeconómico mediante el diseño y aplicación de un programa de manejo integrado del cultivo.

Hipótesis

1. El parasitismo de *M. roreri*, depende de las condiciones microambientales de la plantación comercial, particularmente de la alta humedad relativa. Adicionalmente, la fenología de los estados reproductivos condicionan la eficiencia infectiva del inóculo.
2. El azoxystrobin por su modo de acción translaminar y terapéutica puede eliminar infecciones de *M. roreri* y limitar nuevas infecciones por periodos de 25 días posteriores a su aplicación en frutos juveniles muy susceptibles.
3. La integración de una estrategia basada en el principio de Manejo Integrado del Cultivo (erradicación y métodos de control cultural, químico y físico) promoverá una mejor sanidad de la plantación superior al 50% en comparación con el manejo convencional promedio.

CAPÍTULO II.

REVISIÓN DE LITERATURA

El cacao, origen e importancia

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es un árbol tropical de la familia Sterculiaceae que forma parte de los recursos florísticos 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). Hay una distinción geográfica entre el centro de origen o diversidad del cacao y el área de su primer domesticación en Mesoamérica, donde este puede haber sido cultivado por milenios (Schultes, 1984). 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 otras localidades en Suramérica 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).

En Mesoamérica, región inicialmente libre de enemigos naturales, el cacao prosperó y formó la base de la industria moderna del chocolate (Evans, 2002). Actualmente el cacao es un producto altamente apreciado, y el chocolate es probablemente el más accesible de todos los lujos palatables del hombre. Además, cuando se cultiva de manera tradicional, el cacao ofrece beneficios sostenibles no solo a los campesinos sino también al ambiente (Evans, 2002). No obstante, esta sustentabilidad está bajo amenazas crecientes por enfermedades que han coevolucionado con el cultivo. Algunas de ellas constituidas por enfermedades de nuevo encuentro, las cuales ahora constituyen la más seria restricción para la producción del cacao (Gotsch, 1997).

Según datos estadísticos de la FAO (2009) en 2008 se cosecharon 7,983,625 ha de cacao en el mundo, con una producción de 4,238,886 t. Costa de Marfil es el principal productor, con una producción total de 1,370,000 t en una superficie de 1,800,000 ha y un rendimiento de 761 kg ha⁻¹. En América, el principal productor es Brasil con una producción de 208,386 t en una superficie de 655,585 ha y un rendimiento de 318 kg ha⁻¹. México ocupa el decimocuarto lugar a nivel mundial con una producción de 27,548 t en una superficie de 61,037 ha, en las que el rendimiento fue de 451 kg ha⁻¹. (Figura 1).

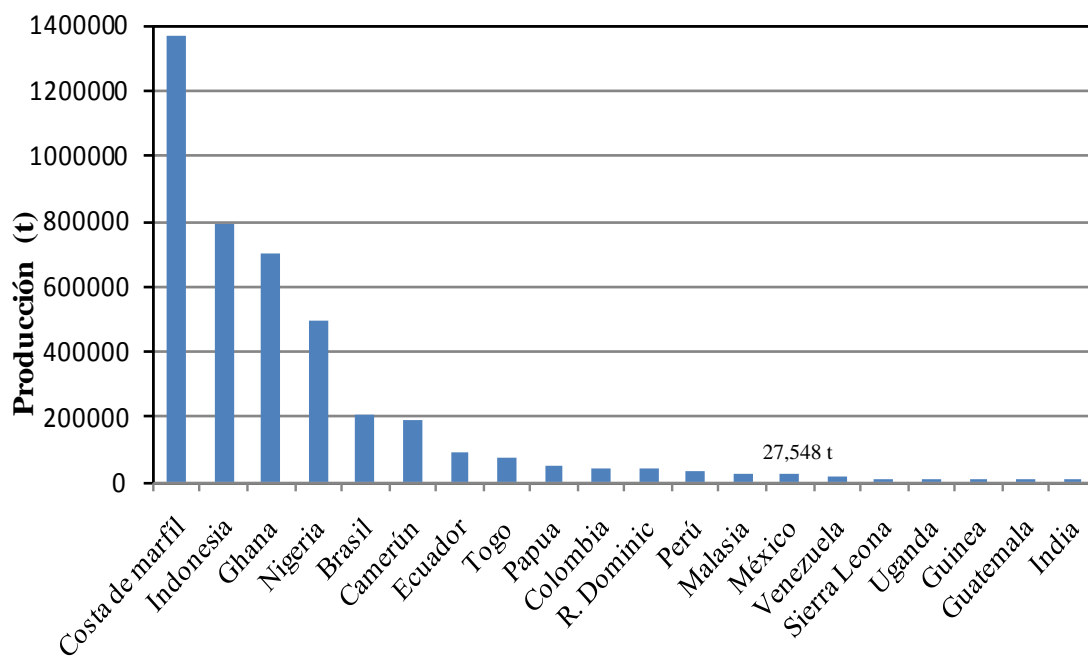


Figura 1. Producción mundial del cacao en grano por país, 2008.

Fuente: Elaboración propia según estadística de la FAO (2009).

Clasificación taxonómica del cacao

Inicialmente, Linneo en 1753, ubicó el género *Theobroma* en la familia Tiliaceae. Después consideró que podría ser incluida en la familia Sterculiaceae, clasificación aceptada hasta nuestros días. *T. cacao* es una de las 22 especies del género *Theobroma* (Hardy, 1960) y de acuerdo con Font Quer (1977), la clasificación taxonómica de *T. cacao* L. es la siguiente:

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Dilleniida

Orden: Malvales

Suborden: Malvina

Familia: Sterculiaceae

Género: *Theobroma*

Especie: *Theobroma cacao*

Dos especies del género *Theobroma* se distribuyen naturalmente en México: *T. cacao* L. y *T. bicolor* Humb. y Bonpl (Ogata, 2007). De *T. cacao* se han descrito dos subespecies: *T. cacao* ssp. *cacao* la cual presenta frutos alargados con surcos pronunciados y granos blancos (cacao criollo) y *T. cacao* ssp. *sphaerocarpum* la cual presenta frutos redondeados con surcos escasamente evidentes y granos de color púrpura (cacao forastero) (Cheesman, 1944); sin embargo, la clasificación cualitativa de *T. cacao* en dos subespecies no se apoya en bases genéticas (Motamayor *et al.*, 2002).

Morfología del cacao

El hábitat del cacao es el estrato bajo de las selvas tropicales, en donde existen temperaturas de poca variabilidad, abundante precipitación y baja intensidad lumínica. Bajo esas condiciones, el crecimiento de árbol es recto hasta los dos metros, posteriormente la yema central deja de crecer y el árbol desarrolla tres a cinco ramas laterales; debajo de estas emite un nuevo brote e inicia nuevamente un crecimiento recto para posteriormente volver a ramificar a cierta altura. Si no se le poda, el cacao continúa su crecimiento hasta alcanzar su altura natural que es de 8 a 10 metros, cuando se cultiva con sombra (Wood, 1975).

El árbol posee raíz pivotante, su longitud y forma final depende principalmente de la textura y el contenido nutrimental del suelo. Las raíces secundarias se extienden horizontalmente y de ellas se diversifican otras raíces (Hardy, 1960).

Las hojas poseen dos estípulas tubuladas (el ápice termina en punta), un peciolo pubescente con un pulvinulo hinchado en la base y otro en la parte superior y en el limbo. El pulvinilo le permite realizar movimientos cuando se expone a alta luminosidad o temperatura (Cueto *et al.*, 2007). La lámina es simple, lanceolada a oval, con margen entero, venación pinnada y la superficie en ambos lados de la hoja es glabra. La vena principal es prominente y el ápice de la hoja es agudo. El tamaño de la hoja varía con su posición en el árbol (Hardy, 1960). Las hojas de la parte media del árbol y las más externas reciben más luz, y generalmente son de mayor tamaño, pero, en lo general, pueden medir de 12 a 60 cm de longitud y de 4 a 20 cm de ancho. Los brotes vegetativos emergen cuando se presentan las temperaturas más altas (Cueto *et al.*, 2007).

La floración se produce en la madera vieja de tallos y ramas principales (cauliflora). Las flores son hermafroditas y originadas en una estructura denominada “cojinete”, la cual puede contener flores numerosas en diferentes estados de desarrollo. Dado que las anteras se encuentran ocultas bajo los pétalos y que la adhesividad del polen es fuerte, la polinización por el viento es difícil. Se estima que el 95 % de la polinización es cruzada y principalmente entomófila; por lo que el cacao es una especie altamente alógama (Cueto *et al.*, 2007). En este

proceso, las hembras del género *Forcipomyia* (Diptera: Ceratopogonidae) son los agentes más importantes (Chapman y Soria, 1983). Sin embargo, se ha calculado que del total de flores, aproximadamente el 5 % producen fruto (Ramírez, 1997) y las flores no polinizadas se desprenden en 24 horas (Wood, 1975; Young, 1982).

T. cacao produce el fruto (mazorcas) en el tronco y los ramas. Hardy (1960) describe al fruto como una baya sostenida por un pedúnculo leñoso. La cáscara o pericarpio está formada por tres capas: epidérmica externa (exocarpo), media (mesocarpo) e interna (endocarpo) (Cueto *et al.*, 2007). El exocarpo constituye un tejido epidérmico con o sin pigmentación, de una sola capa de células, de espesor muy variado que puede ser de 10 a 15 mm. La superficie de la epidermis es alveolada en la que sobresalen numerosos estomas del tipo anomocítico (Fahan, 1978), sin células subsidiarias, únicamente células oclusivas arriñonadas (Flores-Mora, 1989). Posee además, tricomas glandulares con terminales en forma redondeada los cuales se distribuyen sobre la superficie del fruto (Flores-Mora, 1989). Los estomas y tricomas se definen desde el inicio del desarrollo del fruto y disminuyen en densidad a medida que alcanza su madurez (Franco, 1958; Bastidas, 1953). El mesocarpo está formado de capas de células parenquimáticas, fibras semileñosas, y numerosas cavidades circulares o subcirculares, y el endocarpo que consta de esclereidas y fibras, es carnoso y suave (Cueto *et al.*, 2007).

El fruto del cacao posee cinco carpelos que usualmente tienen 30 a 40 semillas, y a veces hasta 50, cubiertas con un material mucilaginoso azucarado derivado del integumento externo del ovario y placentas (Flores-Mora, 1989). Las paredes carpelares del ovario que permanecen en los frutos son largas y carnosas y consisten en células parenquimatosas de paredes delgadas y haces vasculares en las que también existen cavidades pero en menor cantidad y más pequeñas que las del mesocarpo (Flores-Mora, 1989). Las semillas se desarrollan dentro de las mazorcas y son extraídas en etapas de madurez (Gray, 2000) la cual varían según genotipo y ambiente (Cueto *et al.*, 2007). La germinación es epigea y ocurre rápidamente cuando la semilla ha perdido el mucílago que la cubre. La germinación puede durar de tres a siete días después de la siembra o de la separación de la mazorca (Cueto *et al.*, 2007).

Cultivo del cacao en Tabasco

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 (Figura 2 y 3) y 29,505 familias dependen económicamente de este cultivo (OEIDRUS, 2009).

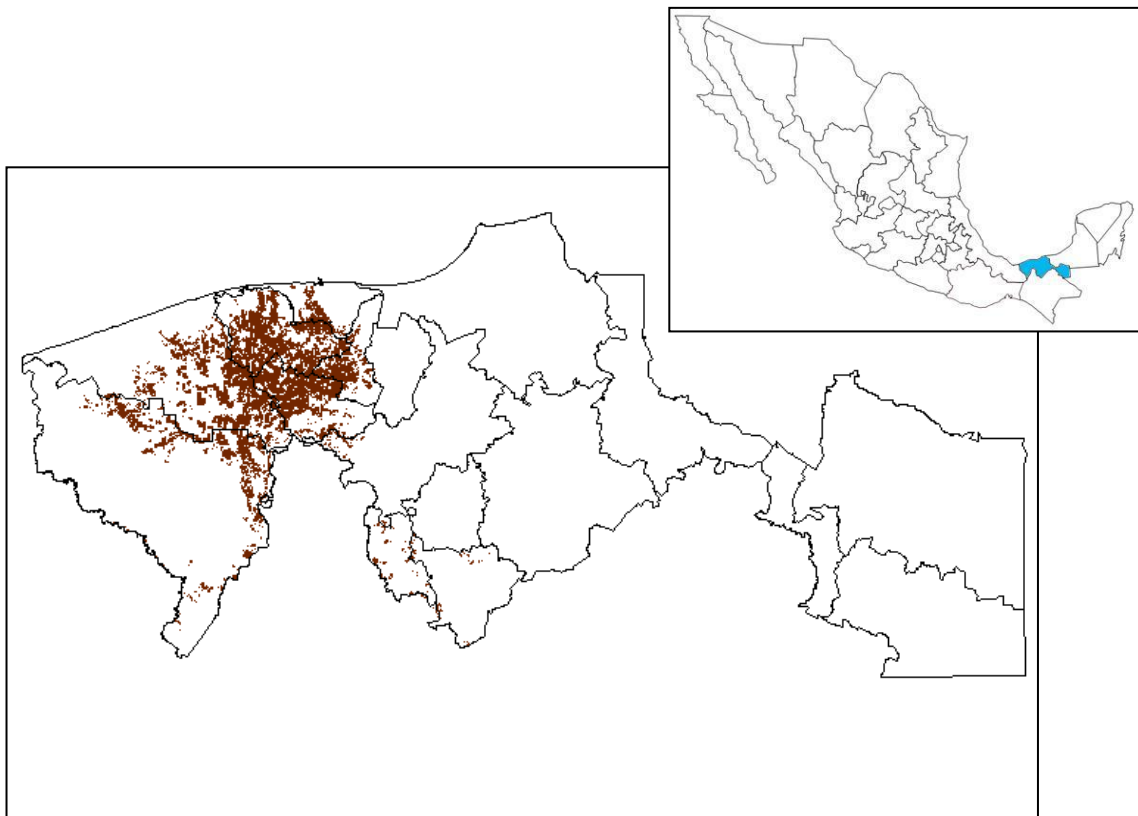


Figura 2. Ubicación del estado de Tabasco en la República Mexicana (recuadro superior) y distribución de las plantaciones de cacao en Tabasco, México. Fuente: OEIDRUS, 2009.

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 aún cuando se han introducido otros cultivos rentables (caña de azúcar, plátano); y actividades económicas sustantivas como la ganadería y explotación petrolera (Scherr, 1983; Ramírez, 1997).

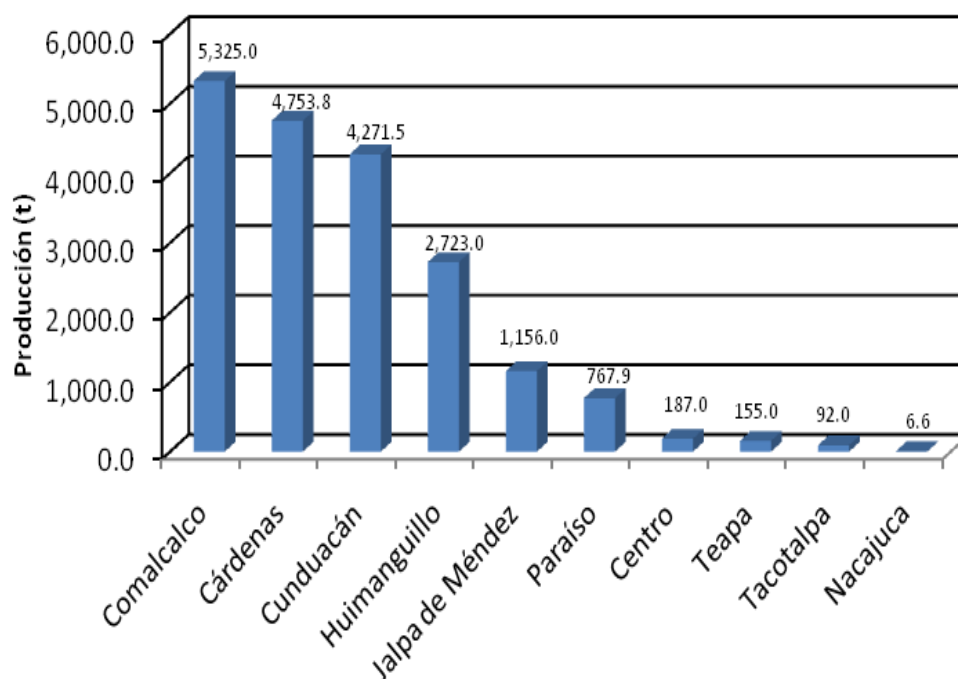


Figura 3. Producción de cacao en grano por municipio en Tabasco, México, 2008.

Fuente: Elaboración propia según estadística de OIEDRUS (2009).

Limitantes fitosanitarias del cacao

Fulton (1989) señaló que el cacao es un ecosistema altamente favorable para el desarrollo de las enfermedades fungosas. Así, a nivel mundial, las enfermedades son consideradas entre los factores limitantes más importantes de la producción del cacao. La enfermedad con mayor distribución es la mancha negra (*Phytophthora* spp.) la cual se encuentra en todos los países productores (Gregory, 1974; Ortiz, 1996). Otra enfermedad restrictiva es la escoba de bruja, causada por (*M. perniciosa* (Aime y Phillips-Mora, 2005), la cual se considera una de las enfermedades más destructivas del cacao, causando pérdidas que varían del 50 al 80% de la producción potencial en Sudamérica (Rugard *et al.*, 1993). La moniliasis del cacao, causada por *M. roleri* es otra de las enfermedades importantes del cacao (Phillips-Mora, 2004). Mal del machete o marchitez es causada por *Ceratocystis fimbriata*, la cual puede ser transmitida por insectos, pero la transmisión mecánica es más importante (Thurston, 1998). El hinchamiento de brotes es la enfermedad viral más destructiva del cacao (Brunt y Kenten, 1971), causada por un complejo de virus agrupados bajo el nombre de *Cacao swollen shoot virus* (CSSV); fue reportada por primera vez en Ghana en 1936 y actualmente se encuentra en otros cuatro países del este de África (Thurston, 1998). El CSSV no se encuentra en América, lugar de origen del cacao.

De las enfermedades anteriormente mencionadas, aquellas causadas por *P. palmivora* (Butl.) Butl. y/o *P. capcisi* Leonina (mazorca negra), *M. perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora (escoba de bruja) y *M. roleri* (Cif. y Par.) Evans *et al.* (moniliasis) son los factores más importantes que limitan la producción de cacao en América (Leach *et al.*, 2002).

La moniliasis del cacao, origen y distribución

Ecuador fue considerado inicialmente como el probable centro de origen de la moniliasis del cacao (MC). Sin embargo, Phillips-Mora (2003), mediante estudios de genética poblacional y el uso de marcadores moleculares, demostró que la región geográfica del noroeste de Colombia contiene la mayor diversidad genética que supera a la encontrada en Ecuador, por lo que ubica a esta área como el centro de origen más probable.

La distribución de *M. roreri* está actualmente restringida a América (Phillips-Mora *et al.*, 2007) donde este ha sido sucesivamente reportado en 11 países sobre un periodo de casi 200 años, comenzando en Colombia en 1817 (Phillips-Mora, 2003), Ecuador en 1917 (Rorer, 1918), Venezuela en 1941 (Muller, 1941) y Perú en 1950 (McLaughlin, 1950). La aparición de *M. roreri* en Panamá en 1956 (Orellana, 1956) marcó una significativa expansión del rango del hongo y este ha sido dispersado a través de Mesoamérica. Durante los últimos 50 años *M. roreri* de dispersó más de 2500 km abarcando seis países: Costa Rica en 1978 (Enríquez y Suárez, 1978), Nicaragua en 1980 (López y Enríquez, 1980), Honduras en 1997 (Porrás y Enríquez, 1998), Guatemala en el 2002 (Phillips-Mora y Wikilson, 2007) Belice en el 2004 (Phillips-Mora *et al.*, 2006b) y México en el 2005 (Phillips-Mora *et al.*, 2006a), alcanzando así el límite norte del cultivo del cacao en el continente americano (Figura 4). Es de notar que en México la dispersión se dio en un salto de aproximadamente 400 km aproximados, a la posición más al norte que se conoce. Posteriormente regresa al sur de Chiapas (Tapachula), cercano a la frontera sur-oeste de Guatemala. La forma en que se dispersó la MC hacia México, y al interior del territorio mexicano, sustenta la teoría de que este evento fue mediado por el hombre.

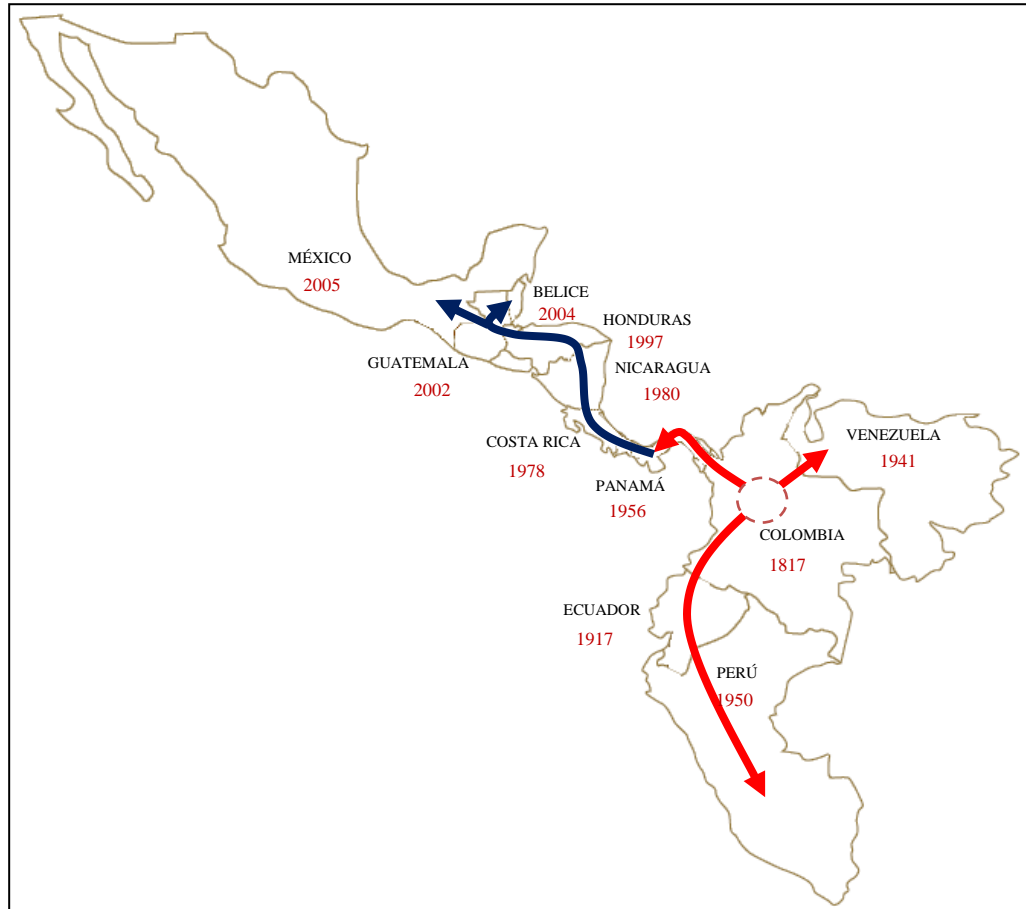


Figura 4. Probable diseminación cronológica de la moniliasis del cacao en América (indicada por la línea remarcada). Línea roja = Diseminación inicial.

Importancia económica de *Moniliophthora roreri*

La MC, llamada también “helada”, “pudrición acuosa de la mazorca” y “enfermedad de Quevedo” causada por *M. roreri*, es una de las enfermedades más destructivas del cacao (Phillips-Mora, 2003). Ha sido reportada como dos veces más destructiva que 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), y dependen de factores como el tiempo de que la enfermedad esté presente en el sitio; edad de la plantación, manejo del cultivo y de la enfermedad; presencia de plantaciones colindantes afectadas y condiciones ambientales (Phillips-Mora y Wilkinson, 2007). Pérdidas mayores al 30% y al 90% se han reportado bajo condiciones favorables, lo que en algunos países ha conducido al total abandono de las plantaciones (Krauss y Soberanis, 2001; Enríquez *et al.*, 1982).

En un contexto mundial, las pérdidas causadas por *M. roreri* son proporcionalmente pequeñas comparadas con los daños globales de *Phytophthora* spp. (con mayor distribución regional); sin embargo, la diseminación de la moniliasis a otras latitudes podría tener efectos superiores para la actividad cacaotera mundial (Phillips-Mora, 2004).

Taxonomía de *M. roreri*

El agente causal de la MC fue originalmente descrito por Ciferri y Parodi (1933), en la siguiente clasificación: clase: Deuteromycetes, orden: Hyphales, género: *Monilia* y especie: *M. roreri*. Sin embargo, Evans *et al.* (1978) observaron características típicas de Basidiomycetes, por lo que propusieron su agrupación dentro de esta clase y crearon un nuevo nombre para denominar la especie: *Moniliophthora roreri*. Phillips-Mora (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*

Morfología básica de *M. roreri*

Moniliophthora roreri posee micelio septado con doliporos típicos (Figura 5). Las esporas se producen en cadenas con maduración basipétala (Evans, 1981) y se desprenden fácilmente del micelio; su pared es gruesa y son amarilla-pálido o café cuando forman masas de esporas. Las esporas principalmente 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).

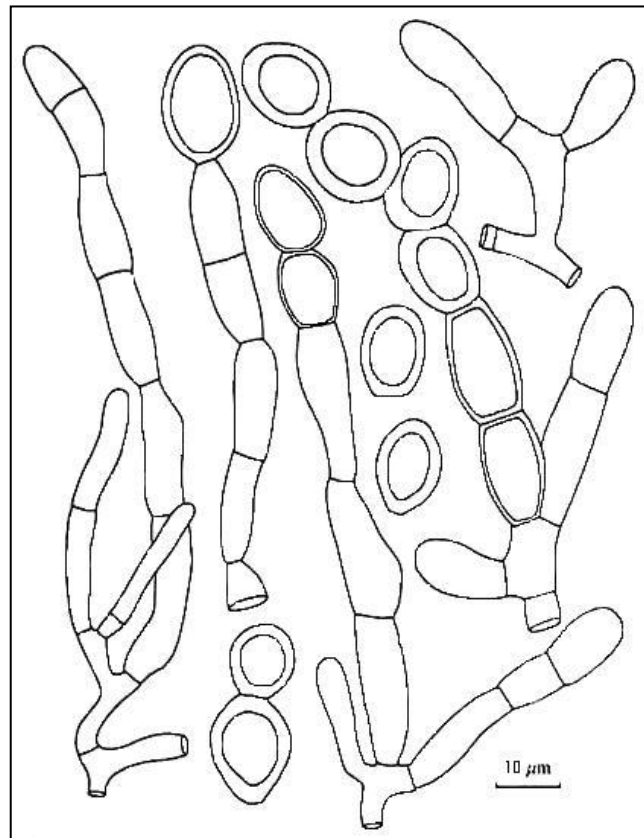


Figura 5. Estructuras morfológicas de *Moniliophthora roreri* mostrando micelio septado y esporas con pared gruesa (Evans, 1981).

Ciclo de vida de *M. roreri*

De acuerdo con Evans *et al.* (1978), *M. roreri* representó el estado mitótico (anamorfo) de un basidiomycete desconocido. Posteriormente, Evans (1981) especuló que el teleomorfo podría ser una especie de *Crinepellis*, dado el inusual ciclo vital pleomórfico, hemibiotrófico que presenta *M. roreri*, el cual también es observado en otro de los patógenos importantes del cacao: *C. pernicioso*.

Evans, *et al.*, (2002) encontraron evidencias de que la meiosis ocurre dentro de las esporas, un fenómeno que tiene coherencia con el contenido nuclear variable de las mismas; por lo que 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 característicos de la moniliaisis (Figura 6 y 7). De acuerdo con Griffith, *et al.* (2003), lo anterior parece indicar que un antepasado de *M. roreri* perdió la capacidad de formar basidiocarpos pero no la capacidad de experimentar división nuclear meiótica.

Hospederos de *M. roreri*

Moniliophthora roreri ataca a especies de los géneros *Theobroma* y *Herrania* (Whitlock y Baum, 1999), ambos de la familia Sterculiaceae; donde *T. cacao* es la más extensiva por su relevancia comercial (Phillips-Mora, 2003). Según Wood y Lass (1985) otras especies importantes son *T. bicolor* y *T. grandiflorum*. *M. roreri* ha sido registrado también en *T. gileri* Cuatr.; *T. mammosum* Cuatr. y León; *T. agustifolium* Mocino y Sessé; *T. simearum* Donn. Smith; *T. silvestre* Mart. y *T. speciosum* (Baker *et al.*, 1954; Evans, 1981; Enríquez, 1981). En especies del género *Herrania* se han registrado a *H. balaensis*; *H. nitida* (Poepp.) Schultes; *H. albiflora*; *H. purpurea* y *H. pulcherrima* (Rorer, 1918; Evans, 1981).

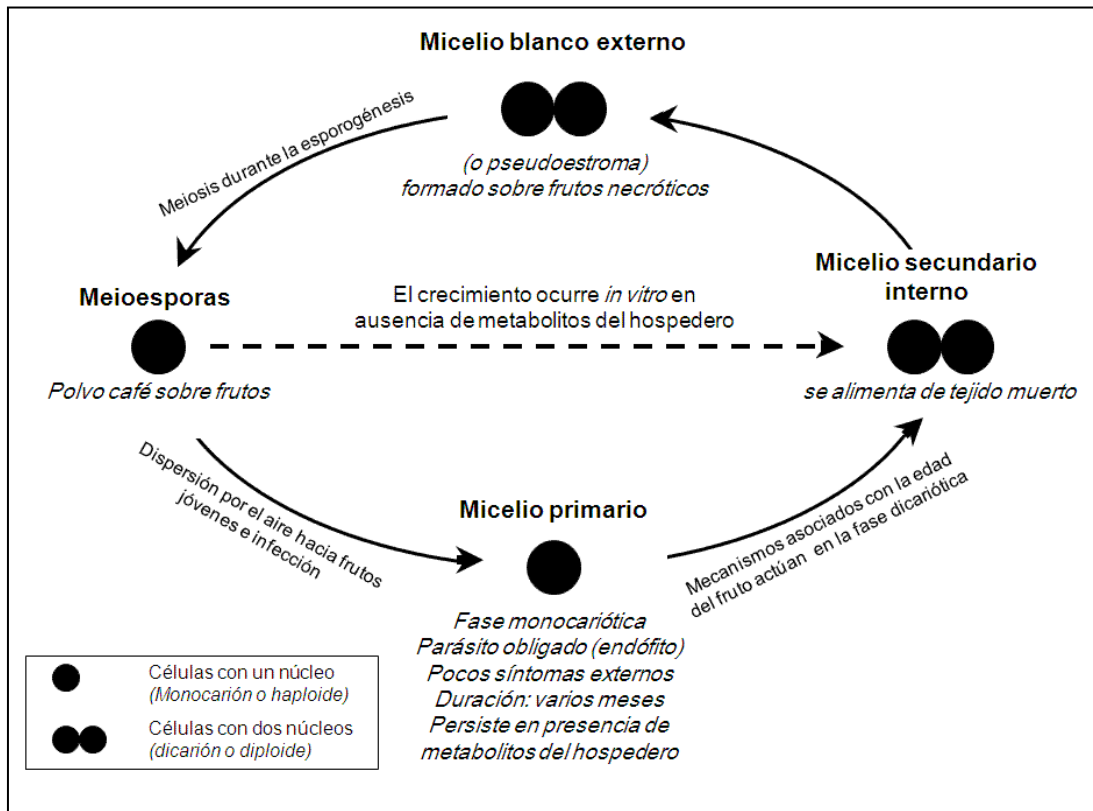


Figura 6. Ciclo de vida de *Moniliophthora roreri*. De acuerdo con Evans, *et al.* (2002).

Síntomas de la enfermedad

M. roreri es un patógeno hemibiotrófico Griffith *et al.* (2003), debido a que posee una etapa biotrófica y una necrotrófica (Figura 6). Sólo ataca frutos en cualquier estado de desarrollo provocando síntomas externos e internos (Evans., 1981; Phillips-Mora y Wilkinson, 2007) (Figura 7). La infección ocurre generalmente en etapas juveniles y se desarrolla internamente mientras el fruto crece (Suárez, 1971). Sin embargo algunos frutos pueden estar infectados sin mostrar síntomas externos. Los síntomas varían con la edad del fruto al momento de la infección; así, los fruto son más susceptibles a la infección cuando son jóvenes y son más tolerantes conforme maduran (Ampuero, 1976).

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 (Figura 7A). Es frecuente que algunos frutos enfermos presenten madurez prematura (Phillips-Mora, 2003) (Figura 7E). Otros síntomas son la aparición de pequeñas áreas aceitosas (Figura 7D), usualmente difícil 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) (Figura 7F), que puede dañar a todo el fruto (Figura 7B); el cual, cuatro a ocho días después, se cubre con un micelio blanco (Figura 7C) y abundante esporulación del patógeno tornándose de color oscuro debido a la maduración de esporas (Figura 7G). La densidad de conidios que se produce 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 7H).

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). 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 (Figura 7I). En infecciones avanzadas, los carpelos, la pulpa y granos se vuelven una masa compacta rodeada por una sustancia acuosa como resultado de la maceración (Rorer, 1981) (Figura 7J). Los frutos enfermos pesan más que los frutos sanos, aún cuando tengan tamaño similar (Evans, 1918). 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)

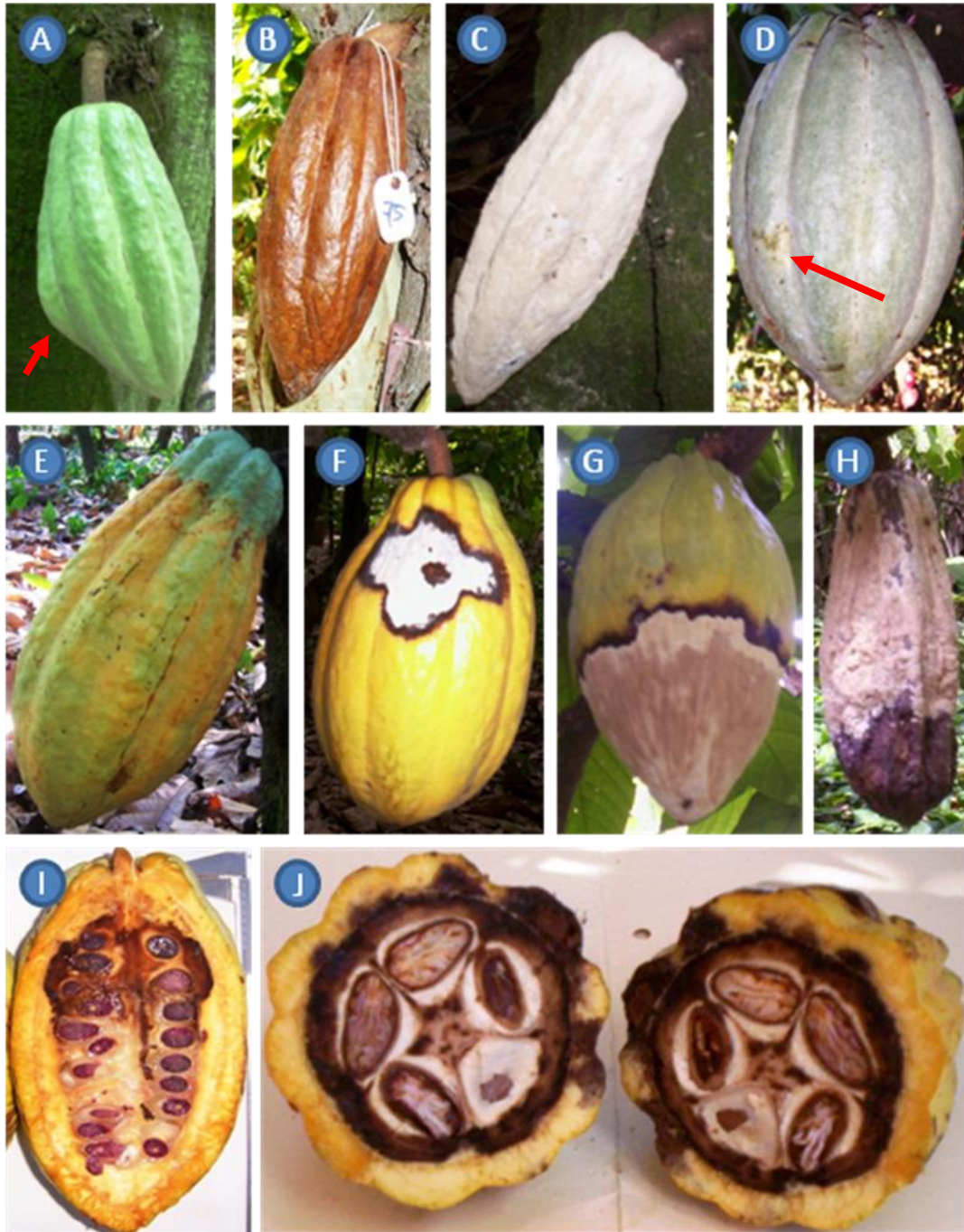


Figura 7. Síntomas y signos causados por *Moniliophthora roreri* en frutos de cacao (*Theobroma cacao*): **A.** Chilillo deforme; **B.** Fruto cubierto por *mancha chocolate*; **C.** Fruto completamente colonizado; **D.** Pequeñas áreas aceitosas sobre la superficie del fruto; **E.** Madurez prematura; **F.** *Mancha chocolate* de borde irregular con micelio; **G.** Esporas en fruto infectado; **H.** Fruto momificado; **I y J.** Síntomas internos.

Condiciones favorables

Moniliophthora roreri prospera de 0 a 1520 msnm, con precipitación anual de 780 a 5,500 mm y temperatura promedio anual de 18.6 a 28 °C (Phillips-Mora, 2003). El alto nivel de adaptación (aptitud epidémica) a diferentes ambientes y gran número de esporas generadas/ciclo hacen de *M. roreri* un patógeno muy severo y un excelente invasor de nuevas regiones geográficas (Evans, 2002; Phillips-Mora, 2003).

Fuente de inóculo y mecanismos de dispersión

M. roreri sobrevive en frutos infectados momificados que permanecen en el árbol de cacao después de la cosecha, los que aportan niveles elevados de inóculo durante todo el periodo de fructificación (Phillips-Mora, 2003; Evans, 1981). Las esporas son los únicos propágulos infectivos de *M. roreri*, y son diseminadas principalmente por el viento. Se desprenden una vez que están secas mediante cualquier estímulo físico (como 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 puede ocurrir también por actividades humanas (Evans, 1986) al transportar frutos enfermos, varetas u otros materiales vegetativos infestados (Phillips-Mora, 2003). Las esporas pueden adherirse fácilmente a estos tejidos y permanecer viable por varios meses. 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. roreri*. En contraste, Wood y Lass (1985) mencionaron que el papel de los insectos en la dispersión de *M. roreri* ha sido de importancia mínima. Un impacto por una gota de lluvia es efectiva para provocar la formación de pequeñas nubes de esporas (Evans, 1981); las cuales pueden ser fácilmente lavadas de frutos esporulados y redistribuidas en el dosel y particularmente el tronco donde pueden entrar en contacto con frutos sanos e inducir nuevas infecciones (Ram, 1989).

Procesos de preinfección e infección

Los conidios 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 (Flores-Mora, 1989). 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 aparición de los síntomas es de 40 a 60 días y depende de la edad del fruto al momento de la infección y del cultivar (Desroiser y Suárez, 1974).

Control de la Moniliasis

Las medidas que se han aplicado para el control de *M. royeri* incluyen: control cultural, biológico, químico y genético. El manejo cultural ha incluido prácticas como remoción semanal de frutos enfermos (saneamiento) (González *et al.*, 1983; Soberanis *et al.*, 1999; Krauss *et al.*, 2003), eliminación total de frutos en época de baja producción o al final de la principal etapa de producción (Purga) (González *et al.*, 1983; Bateman *et al.*, 2005), poda, eliminación de renuevos, control de maleza, drenaje efectivo (Barros, 1966), cosecha oportuna de frutos (Bateman *et al.*, 2005) y poda de árboles de sombra (Galindo, 1984). La eliminación

de frutos infectados y esporulados pueden reducir o retardar la dispersión de esporas dentro de la plantación y también jugar un papel importante en la prevención del establecimiento de la enfermedad en nuevas áreas (Antúnez de Mayolo, 2003). Phillips-Mora (2004) y Galindo (1987) propusieron de manera teórica que para asegurar la efectividad de la poda sanitaria, se debe complementar con otras prácticas culturales como el combate de maleza, poda del árbol de cacao, regulación de la sombra, acondicionamiento de drenaje y cosecha oportuna de los frutos; para modificar el microclima de la plantación, y desfavorecer al patógeno.

Krauss y Soberanis (2001), han reportado el uso efectivo del control biológico mediante mezclas de micoparásitos para el control de la MC con la combinación de cinco aislamientos de *Clonostachis rosea* con incremento en la producción. Por su naturaleza, el control biológico no elimina, sino que reduce las poblaciones de patógenos y como consecuencia, reduce la incidencia de la enfermedad; por lo tanto, este tipo de control debe emplearse de manera integrada con otros métodos de control.

En experimentos realizados en varios países, se ha determinado que el combate químico de la MC es usualmente antieconómico y en muchos casos ineficaz (Desrosiers y Suárez, 1974; Suárez, 1982; González *et al.*, 1983); sin embargo, esta apreciación puede ser incorrecta tomando en cuenta que algunos experimentos han sido realizado en sistemas con baja productividad o cuando los precios del cacao son bajos. Por otro lado, la ineficiencia que se confiere al control químico puede deberse a la utilización de métodos de evaluación incorrectos, ya que debido al largo periodo de incubación, se aplican productos químicos de contacto a frutos ya enfermos, lo que posiblemente propicia la falta de eficiencia del producto. Los mejores resultados obtenidos en el control químico de la MC, en condiciones de campo, han sido a través de la aplicación de clorothalonil (Daconil-500) (González *et al.*, 1983), óxido cuproso (Murillo y González, 1984), hidróxido de cobre (Hidalgo *et al.*, 2003) y el fungicida sistémico flutolanil (Bateman *et al.*, 2005).

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 destacada de

resistencia en el clon ICS-95 con un significativo nivel de resistencia contra aislamientos de *M. royeri*. En base a lo anterior, el uso de la resistencia genética contra *M. royeri* es factible. Sin embargo, el progreso en la investigación de resistencia no se ha visto reflejado en el combate exitoso de la enfermedad, posiblemente debido a que esta estrategia de manejo generalmente no integra simultáneamente otros métodos de control complementarios.

Aunque el uso de clones con resistencia genética representa una importante alternativa como método de control de la MC, este tiende a reducir la diversidad genética; por lo que puede afectar los sistemas tradicionales de producción sostenibles, y hacer al cultivo más vulnerable a plagas, cambios ambientales, e incrementar la dependencia a los insumos externos (Gliessman, 2002). Al respecto, las plantaciones tradicionales de cacao simulan en gran medida las condiciones de un ecosistema natural (diversidad de especies de otros cultivos, variación genética intraespecífica en cacao, complejidad en estructura y poca dependencia de insumos externos) y han sido consideradas como agroecosistemas sustentables (Evans, 2002; Gliessman, 2002), por lo que plantaciones monoclonales pueden representar una amenaza para aquellos países o regiones donde el sistema de producción cacao es sustentable. En este caso, el establecimiento de plantaciones que incluyan diferentes clones comerciales puede disminuir el riesgo de erosionar la diversidad genética.

Debido a que no se han hecho progresos notables en la utilización comercial de clones con resistencia a la MC, y considerando el tiempo que se llevarían los programas de reconversión de plantaciones susceptibles a plantaciones resistentes o tolerantes, es necesario explorar productos químicos efectivos contra *M. royeri*, 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.

Ocurrencia de la moniliasis del cacao en México.

La MC se registró por primera vez en plantaciones localizadas en la ranchería Ignacio Zaragoza, Municipio de Pichucalco, al norte de Chiapas en marzo del 2005 (Ortíz, 2005; Phillips-Mora *et al.*, 2006a). Los niveles altos de incidencia (>80%), la amplia y rápida dispersión de la enfermedad en el área, y la frecuente presencia de frutos momificados, indican que la MC arribó ahí al menos un año antes de la detección (Ortíz, 2005). Según Phillips-Mora *et al.*, (2007), la presencia de importantes barreras geográficas y la amplia separación entre esta área y las plantaciones afectadas en Guatemala, Honduras y Belice, favorecen la hipótesis de que la dispersión fue mediada por el hombre. Dado que los perfiles moleculares de aislamientos mexicanos resultaron 100% similares a los de Panamá, Costa Rica, Nicaragua, Honduras y Belice, es probable que esta dispersión ocurrió a partir de una fuente no identificada en América Central (Phillips-Mora *et al.*, 2006a). Cuando la MC se detectó inicialmente en México, se determinó que al menos 1,000 ha ya estaban infectadas en Pichucalco, Juárez, y Ostuacán en Chiapas, y Huimanguillo en Tabasco (límitrofe con Chiapas) (Phillips-Mora *et al.*, 2007).

Para contener la dispersión de la MC al estado de Tabasco, un cordón fitosanitario de cinco km de amplitud se estableció en 2005 a lo largo de la frontera con el estado de Chiapas (Figura 8). Esta área fue continuamente monitoreada por el Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Tabasco (CESVETAB) para detectar tempranamente nuevas plantaciones afectadas y aplicar prácticas culturales para controlar la enfermedad y evitar la dispersión. Las medidas adoptadas por el gobierno estatal fueron ineficientes, por lo que la MC continuó su comportamiento invasivo en Tabasco afectando 1,033 nuevas hectáreas de mayo de 2005, a abril de 2006 dentro de la zona del cordón fitosanitario (CESVETAB-SAGARPA, 2006). *M. roreni* sobrepasó el cordón de seguridad detectándose en algunas fincas de los dos municipios más importantes productores de cacao: Comalcalco y Cárdenas. En julio de 2006 solo Paraíso, Nacajuca y Tacotalpa permanecían libres de la enfermedad en Tabasco. Para abril de 2007 la MC se había dispersado a todas las zonas productoras de cacao en Tabasco (Figura 8) (CESVETAB-SAGARPA, 2007). Esta dispersión, a parte de otros factores, fue favorecida por

no atender de manera estricta el factor humano en el principio de exclusión, señalado por Phillips-Mora (2004) como la forma más eficiente de dispersión de la MC.

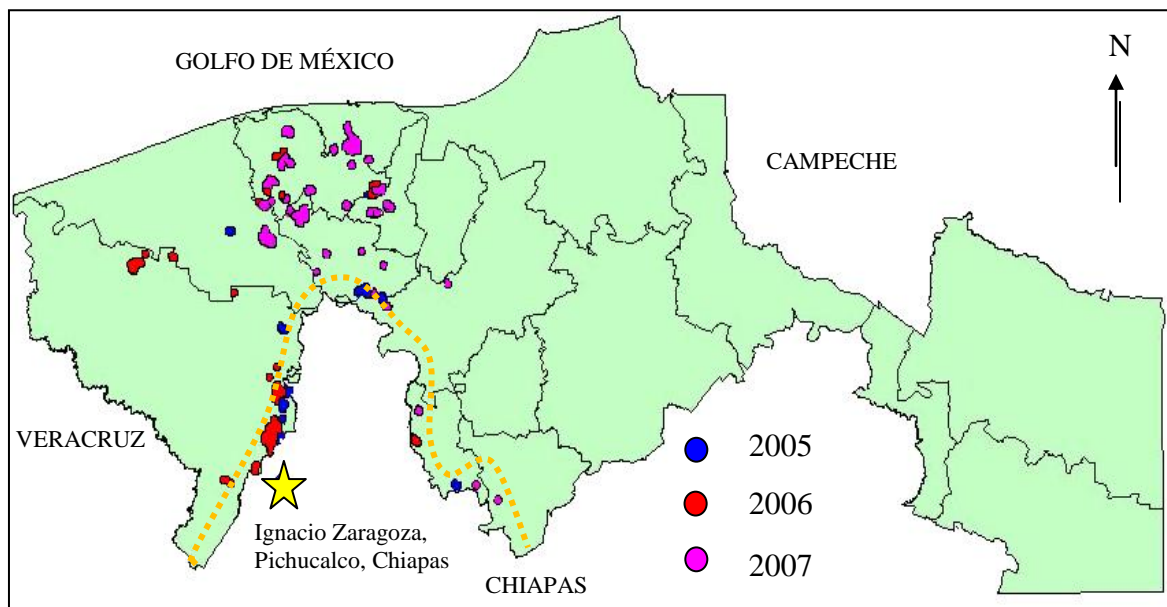


Figura 8. Avance de la moniliasis en Tabasco, México desde abril 2005 a abril 2007

★ Foco inicial de la moniliasis del cacao en Chiapas.

●●● Focos detectados en Tabasco.

----- Cordón fitosanitario.

Fuente: CESVETAP/SEDAFOP/SAGARPA, 2007.

Estudio temporal de la enfermedad

Reynolds *et al.* (1988) mencionaron que para estudiar la incidencia o severidad de una enfermedad es importante cuantificarla cronológicamente a través del tiempo; y de acuerdo con Campbell y Madden (1990), los resultados se pueden graficar en una curva que muestre su progreso con base en los principales estimadores de la curva o parámetros epidemiológicos, como son: cantidad inicial (Y_0) y máxima (Y_f) de la enfermedad, tasa de incremento de la enfermedad (r), el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE).

Uno de los aspectos importantes en el análisis temporal de epidemias es la selección de un modelo apropiado para describir el progreso de la enfermedad ya que los parámetros estimados por el modelo (ej. Monomolecular, Logístico, Weibull) forman la base para el análisis estadístico y la comparación de curvas del progreso de la enfermedad. Para describir el progreso temporal de epidemias se han utilizado modelos flexibles y no flexibles para lograr una apreciación visual de la curva del progreso de la enfermedad, observar los cambios de la enfermedad por causa de algún factor biótico o abiótico asociado, comparar parámetros epidemiológicos, y facilitar el manejo y prevención de la enfermedad; con base en el progreso que esta tiene a través del tiempo (Campbell y Madden, 1990).

Los estudios temporales sobre la moniliasis del cacao se han enfocado en algunos países a generar estrategias de control basadas en comparaciones entre tratamientos experimentales, con una sola variable dependiente como fungicidas y frecuencia de remoción de frutos. De acuerdo con Campbell y Madden (1990), este tipo de análisis ha sido el más aplicado y ampliamente utilizado ya que requiere poco esfuerzo en modelar el progreso de la enfermedad o interpretar curvas del progreso de la enfermedad; sin embargo, el propósito del análisis temporal de epidemias determina la complejidad del análisis. En los trabajos más recientes de control de la MC destacan pruebas aisladas de productos biológicos en Panamá (Krauss *et al.*, 2006); ensayos de productos químicos y biológicos en Costa Rica (Bateman *et al.*, 2005; Hidalgo, *et al.*, 2003); evaluación de clones resistentes a *M. royeri* (Phillips-Mora *et al.*, 2005); pruebas de frecuencia de remoción de frutos enfermos, evaluación de productos químicos y de resistencia en Perú (Ríos-Ruiz, 2004); ensayos de frecuencias de eliminación de frutos enfermos y control biológico en Costa Rica (Krauss *et al.*, 2003), evaluación de control químico y cultural (Sánchez, *et al.*, 2003), pruebas de control biológico y frecuencias de remoción de frutos enfermos en Perú (Krauss y Soberanis, 2001; Soberanis *et al.*, 1999).

Según Campbell y Madden (1990), a un nivel de análisis más complejo, cambios en factores ambientales específicos, dentro de un patosistema, inducen cambios en la epidemia que son reflejados por alteración en la curva del progreso de la enfermedad. En este nivel de análisis, en los modelos de progreso de la enfermedad las variaciones en las curvas son interpretadas utilizando varios parámetros descriptivos (r , ABCPE, Y_f), lo cual permite mejorar la

comprensión y descripción de epidemias. En base a lo anterior, la evaluación de un manejo integrado en el que se incluya modificaciones ambientales (ej. microclima, radiación solar) debería ser evaluado a un nivel más complejo.

Manejo Integrado de Plagas

El Manejo de Integrado de Plagas (MIP) es un sistema de protección de cultivos orientado a mantener las plagas en niveles que no causen daño económico mediante el uso preferencial de factores naturales, o sus derivaciones, que resulten adversos a su desarrollo (Cisnero, 1995). Téliz y Nava (2001) definen al MIP como un sistema interdisciplinario de decisiones apoyado en el conocimiento de la biología del cultivo, de las plagas y de su interacción con el ambiente para disminuir mediante diversas tácticas, el daño socioeconómico y ambiental. La práctica del MIP se inició a fines de la década de 1950 como una reacción a las deficiencias y complicaciones que se detectaron en el uso de plaguicidas para la protección de los cultivos (Cisnero, 1995) y como una necesidad de restaurar los desequilibrios causados a los agroecosistemas por el monocultivo de variedades genéticamente uniformes, uso intensivo de agroquímicos y la excesiva mecanización del suelo (Bauer, 1987).

El MIP se basa en los principios de exclusión, erradicación, protección y genético. Estos principios se aplican de forma combinada de diversos métodos de control como el cultural, físico, genético, biológico y químico, bajo un enfoque de manejo integrado del cultivo (Téliz y Mora-Aguilera, 2007). Desde el punto de vista técnico se consideran cuatro aspectos fundamentales en el MIP: a) su orientación tiene bases ecológicas, b) en su implementación se utilizan dos o más componentes de manejo (es multilateral), c) en la selección de los componentes, se priorizan los factores de mortalidad natural sobre el uso de plaguicidas, y d) son sistemas flexibles que cambian según las circunstancias climáticas, biológicas o económicas del cultivo (Cisnero, 1995). Entre los objetivos generales de un programa MIP se considera la protección del ambiente, la sustentabilidad del sistema y la inocuidad en los procesos de producción y en los productos agrícolas para evitar daños a la salud humana (Téliz y Mora-Aguilera, 2007).

Pocos trabajos bajo el enfoque de MIP han sido realizados para la MC. La mayoría de las medidas de control de *M. roreri* se han evaluado de manera aislada (Bateman *et al.*, 2005; Hidalgo *et al.*, 2003; Krauss y Soberanis, 2001; Soberanis *et al.*, 1999). Krauss *et al.* (2003) presentaron un trabajo sobre MIP; sin embargo, las medidas evaluadas se aplicaron de manera independiente. Ruiz-Ríos (2004) presentó un estudio MIP con medidas independientes, con excepción de un tratamiento donde evaluó resistencia de cultivares de cacao combinado con la remoción de frutos enfermos. Lo anterior justifica la necesidad de evaluar un MIP integrando medidas que operen en forma directa e indirecta sobre la efectividad de inóculo primario y secundario, así como en la sobrevivencia de *M. roreri*.

LITERATURA CITADA

- 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.
- 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.
- Ampuero, C.E. 1967. *Monilia* pod rot of cocoa. *Cocoa Growers' Bulletin* 9:15-18.
- Aranzazu, 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. 144 pp.
- Antúnez de Mayolo, G. 2003. Genetic engineering of *Theobroma cacao* and molecular studies on Cacao defense responses. Thesis Doctor of Philosophy. Pennsylvania State University. 154 p.

- Baker, R.E.D., Cope, F.W., Holliday, P.C., Bartley, B.G., and Taylor, D.J. 1954. The anglo-colombian cacao collecting expedition. A report on cacao research. St. Augustine, Trinidad: Imperial Collage, pp 8-29.
- 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.
- Barros, N.O. 1981. Avances en la represión de la moniliasis del cacao. Proceedings of the Eighth International Cocoa Research Conference. Cartagena, Colombia: Cocoa Producers' Alliance. pp. 401-405.
- 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.
- Bastida, R.A. 1953. Patogenicidad de *Monilia* sp. en *Theobroma cacao* L. *Cacao en Colombia* 2:139-152.
- Bauer, M.L. 1987. *Fitopatología*. Ed. Limusa. México. 384 p.
- Brunt, A.A., and Kenten, R.H. 1971. Viruses infecting cacao. *Plant Pathology* 50:591-602.
- Campbell, C.L., and Madden, L.V. 1990. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. John Wiley and Sons. New York. 532 p.
- CESVETAB-SAGARPA, 2006. Informe mensual del avance de la moniliasis del cacao en Tabasco. Villahermosa, Tabasco: Oficina de la Subdelegación de la SAGARPA. 5 p.
- CESVETAB-SAGARPA, 2007. Informe mensual del avance de la moniliasis del cacao en Tabasco. Villahermosa, Tabasco: Oficina de la Subdelegación de la SAGARPA. 7 p.

- Chapman, R.K., and Soria, S.J. 1983. Comparative Forcipomyia (Diptera, ceratopogonidae) pollination of cacao in Central America and Southern Mexico. *Theobroma* 13:129-139.
- Cheesman, E.E. 1944. Notes on the nomenclature, clasification and the possible relationships of cacao populations. *Tropical Agriculture* 21:144-159.
- Ciferri, R., and Parodi, E. 1933. Descrizione del fungo che causa la “Moniliasi” del cacao. *Phytopathologische Zeitschrift* 6: 539–542.
- Cisnero, V.F. 1995. Control de Plagas Agrícolas. 2da. ed. Ed. FuUprit. Lima, Perú. 313 p.
- Cuatrecasas, J. 1964. Cacao and its allies; a taxonomic revision of the genus *Theobroma*. *Contributions from the United States National Herbarium* 35:379-614.
- 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.
- 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.
- Desroiser R., and Diaz, 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.
- Enríquez, G., and Suárez, C. 1978. Monilia disease of cocoa in Costa Rica. *Turrialba* 28:339-340.

- Enríquez, G.A. 1981. La moniliasis irrumpe en las zonas cacaoteras en Costa Rica. *Actividades en Turrialba* 9:8-9.
- 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.
- Evans H.C., Stalpers J.A., Samson R.A., and Benny G.L. 1978. On the taxonomy of *Monilia roreri*: 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 (Monilia) roreri*. *Phytopathological Papers* 24:1-44.
- 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. pp 83-112. In: Watling R., Frankland J.C., Ainsworth A.M., Isaac S., and C. Robinson, eds. *Tropical Mycology*. Vol. 2. Micromycetes. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Evans, H.C, Holmes, K.A., Phillips, W. and Wilkinson, M.J. 2002. What's in a name: *Crinipellis*, the final resting place for the frosty pod rot pathogen of cocoa?. *Mycologist* 16:1-4.
- Fahan, A. 1978. *Anatomía Vegetal*. Ed. H. Blume. Madrid. 643 p.
- FAO. 2009. Food and Agriculture Organization, <http://faostat.fao.org>. Rome.

- 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. 84 p.
- Font Quer, P. 1977. Diccionario de Botánica. Ed. Labor. Barcelona España. 427 p.
- Franco, T. 1958. Transmisión de la Moniliasis del Cacao por el *Mecistorhinus tripterus* f. pp 130-138. In: Conferencia Interamericana del cacao. Resúmenes. Palmira, Colombia.
- Fulton, R.H. 1989. The cacao disease trilogy: Black pod, Monilia pod rot, and Witches' Broom. Plant Disease 73:601-603.
- Galindo, J.J. 1984. Programa de cacao investiga moniliasis. Actividades en Turrialba CATIE 12:8-9.
- Galindo, J.J. 1987. La Moniliasis del Cacao en Centro América. pp. 7-16. In: Pinochet, J. Ed. Plagas y Enfermedades de Carácter Epidémico en Cultivos Frutales de la Región Centro Americana. CATIE. Costa Rica.
- Gliessman, S.R. 2002. Agroecología: Procesos Ecológicos en Agricultura Sostenible. Ed. Litocat. Costa Rica. 369 p.
- 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.
- Gotsch, N. 1997. Cocoa crop protection: An expert forecast on future progress, research priorities and policy with the help of the Delphi survey. Crop Protection 16:227-233.

- Gray, A. 2000. The World Cocoa Market Outlook, Ghana Conference, May. LMC International Press. 29 p.
- Gregory, P.H. 1974. Phytophthora Disease of Cacao. London, UK, Longman. 348 p.
- 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.
- Hardy, F. 1960. Cacao manual. English edition. Inter-American Institute of Agricultural Sciences. Turrialba, Costa Rica. pp 229-308.
- 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.
- 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. 94 p.
- Krauss, U., and 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., and Soberanis, W. 2002. Effect of fertilization and biocontrol application frequency on cocoa pod diseases. *Biological Control* 24:82-89.
- Krauss, U., ten Hoopen, M., Hidalgo, E., Martínez, A., Arroyo, C., García, J., Portugués, A., y Sánchez, V., 2003. Manejo integrado de la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (*Theobroma cacao*) en Talamanca, Costa Rica. *Agroforestería en las Américas* 10:52-58.

- Krauss, U., ten Hoopen, G.M., Hidalgo, E., Martínez, A., Stirrup, T., Arroyo, C., García, J., and Palacios, M. 2006. The effect of cane molasses amendment on biocontrol of frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*) and black pod (*Phytophthora* spp.) of cocoa (*Theobroma cacao*) in Panama. *Biological Control* 39:232–239
- Leach, A.W., Mumford, J.D., and Krauss, U. 2002. Modelling *Moniliophthora roreri* in Costa Rica. *Crop Protection* 21:317-326.
- López, G.M.A., y Enríquez V.O. 1980. Presencia de *Monilia roreri* Cif. et Par. en el cacao, *Theobroma cacao* L. en la frontera de Costa Rica-Nicaragua. Managua, Nicaragua. Ministerio de Desarrollo Agropecuario. 150 p.
- 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 pernicioso* and *Moniliophthora roreri*. *Plant Pathology* 44:982–998.
- McLaughlin, H. 1950. Observation on cacao in Peru. *Cacao Information Bulletin* 2:3-4.
- Motamayor, J.C., Risterucci, A.M., Lopez, P.A., Ortiz, C.F., Moreno, A., and Lanaud, C. 2002. Cacao domestication I: the origin of the cacao cultivated by the Mayas. *Heredity* 89:380-386.
- Muller, A. 1941. El reconocimiento de las enfermedades de las plantas cultivadas de Venezuela. *Boletín de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales* 8:99-113.
- 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.
- 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.
- Orellana, R.G. 1956. La moniliasis y otras enfermedades del cacao en el este de Panamá. *Boletín Fitosanitario. FAO* 4:168-169.
- Ortiz, G.C.F., 1996. Etude de la diversité génétique de populations de *Phytophthora* pathogène du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) et du cocotier (*Cocos nucifera* L.). Tesis Doctoral. Université Paul Sabatier-Centre de Fisiología Vegetal – CNRS. Toulouse, Francia. 85 p.
- Ortiz, G.C.F. 2005. La moniliasis del cacao: una enfermedad devastadora de América Latina ahora en México, primera parte. *Produce Tabasco* 2:13-15.
- Padwick, G.W. 1956. Losses Caused by Plant Diseases in the Colonies. *Phytopathol paper No. 1. Commonw. Mycol. Inst., Kew, Surrey.* 60 p.
- 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. 349 p.
- 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., Cawich, J., Garnett, W., and Aime, M.C. 2006b. First report of frosty pod rot (moniliasis disease) caused by *Moniliophthora roreri* on cacao in Belize. *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.*
- Porras, V.H. and Enríquez, G. 1998. Spread of monilia pod rot of cocoa through Central America. IICA, San José, Costa Rica. 20 p.
- Ram, A. 1989. Biology, epidemiology and control of moniliasis (*Moniliophthora roreri*) of cacao. PhD. Thesis. London, UK; University of London, 286 p.
- Ramírez, D.F.J. 1997. Sistema Agroindustrial Cacao en México y su Comportamiento en el Mercado. UACH, Chapingo, Mex. 161 p.
- Rangel, J.F. 1982. Desenvolvimento e participação. CEPLAC-CACAU. Año 25. Instituto Interamericano para la Cooperación con la Agricultura. Brasilia. Brasil. 138 p.
- Reynolds, K.M., Madden, L.V., and Ellis, M.A. 1988. Spatio-temporal analysis of epidemics using spatio-temporal autocorrelation. *Phytopathology* 78:240-246.
- Ríos-Ruiz, R.A. 2004. Epidemiologia e manejo da moniliasis do cacau no Peru. Tese de Doctor Scientiae. Universidade Federal de Vicosa. Programa de Pos-Graduacao em Fitopatología. Brasil. 80 p.

- Roberts, D.A. y Boothroyd, C.W. 1972. Fundamentos de la Patología Vegetal. Ed. Acribia. España. 392 p.
- Robinson, R.A. 2005. Self-Organizing Agro-Ecosystems. 2nd ed. Sharebooks Ed. Canada. 518 p.
- Rorer, J.B. 1918. Enfermedades y plagas del cacao en Ecuador y métodos modernos apropiados al cultivo del cacao. Guayaquil, Ecuador: Asociación de Agricultores, pp. 17-40.
- Rorer, J. B. 1926. Ecuador cacao (Part 1). Tropical agriculture (Trinidad) 3: 46-47.
- Rugard, S.A., Maddison, A.C., and Andebrhan, T. 1993. Disease Management in Cocoa: Comparative Epidemiology of Witches' Broom. Chapman and All. London. 249 p.
- Sánchez F.L., Gamboa, E., y Rincón, J. 2003. Control químico y cultural de la moniliasis (*Moniliophthora roreri* Cif & Par) del cacao (*Theobroma cacao* L) en el estado Barinas. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 20:188-194.
- Scherr, S.J. 1983. Resolving the agriculture-petroleum conflict: The experiences of cocoa smallholders in Mexico. Department of agricultural Economics. Cornell University. Ithaca, New Cork. 233 p.
- Schultes, R.E. 1984. Amazonian cultigens and their northward and westward migration in pre-Colombian times. Ethnobotany 76:19-37.
- Soberanis, W., Rios, R., Arévalo, E., Zúñiga, L., Cabezas, O., and Kraus, U. 1999. Increased frequency of phytosanitary pod removal in cacao (*Theobroma cacao*) increases yield economically in eastern Peru. Crop Protection 18:677-685.

- Suárez, C. 1971. Estudio del mecanismo de penetración y proceso de infección de *Monilia rozeri* Cif y Par. en frutos de cacao (*Theobroma cacao* L.) Tesis Ing. Agr. Universidad de Guayaquil, Ecuador. 59 p.
- Suárez, C. C. 1982. El Problema de la Moniliasis y su Combate en el Ecuador. pp. 70-78. In: Enriquez, G. A. Ed. La Moniliasis del Cacao. CATIE Serie Técnica. Costa Rica.
- Téliz, O.D. y Mora-Aguilera, A. 2007. El Manejo Integrado del Aguacate. pag. 287-306. En: D. Téliz y A. Mora. El Aguacate y su Manejo Integrado. 2da. Ed. Ed. Mundi Prensa, México. 321 p.
- Téliz, O.D. y Nava, D.C. 2001. MIP: Principios y Filosofía. En: Téliz, O.D. El Manejo Integrado de Plagas. Simposio. Congreso Anual Sociedad Mexicana de Entomología (XXXVI) y Sociedad Mexicana de Fitopatología (XXVIII). Querétaro, México. 129 p.
- Thurston, H.D. 1998. Tropical Plant Disease. 2da. ed. APS PRESS Ed. The American Phytopathological Society. 200 p.
- Whitlock, B.A. and Baum, D.A. 1999. Phylogenetic relationships of *Theobroma* and *Herrania* (Sterculiaceae) based on sequences of the nuclear gene vicilin. Systematic Botany 24:128-138.
- 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.
- Wood, G.A.R. 1975. Cacao. Ed. C.E.C.S.A. México. 363 p.
- Wood, G.A.R. y Lass R. A. 1985. Cocoa. 4^a ed. Cornwall, UK: Blackwell Science, 620 p.
- Young, A. M. 1982. Population Biology of Tropical Insects. Plenum press, New York. 511 p

CAPÍTULO III.

EVALUACIÓN DEL AZOXYSTROBIN SOBRE EL HONGO *Moniliophthora roreri*, CAUSA DE LA MONILIASIS DEL CACAO (*Theobroma cacao*)

RESUMEN

El Hongo *Moniliophthora roreri*, causante de la moniliasis, principal limitante parasítica de la producción de cacao en Tabasco, México, fue identificado morfológica y molecularmente (numero de acceso GenBank: GU108605). El fungicida azoxystrobin *in vitro*, inhibió el 100 % de la germinación de conidios a una concentración de 450 ppm y el 96 % del crecimiento micelial con una concentración de 1250 ppm. La concentración efectiva 95 (CE₉₅) para la germinación y el crecimiento micelial fue de 138 y 1203 ppm, respectivamente. Frutos tratados en el campo con azoxystrobin a 1250 ppm resultaron con una mortalidad del 42 % comparado con 94 % frutos sin tratamiento. La efectividad terapéutica del azoxystrobin fue de 55% en frutos juveniles de hasta 7 cm de longitud, infectados naturalmente y con síntomas de *jiba* o hinchamientos. El 94 % de los frutos sin tratar murieron por la MC, mientras que el 52 % de los frutos tratados, alcanzaron madurez aunque con desarreglo y disminución en el numero de granos. Este es el primer reporte de la acción curativa de un fungicida sobre *M. roreri* y muestra que el azoxystrobin puede ser incorporado en programas de manejo integrado de la enfermedad y del cultivo.

Palabras claves: Frosty pod rot, estrobirulinas, control químico, efecto terapéutico.

ABSTRACT

The fungus *Moniliophthora roreri*, causal agent of frosty pod rot (FP), the main limiting disease of cocoa (*Theobroma cacao*) production in Tabasco, México, was morphologic and molecularly identified (GenBank accession number: GU108605). The fungicide azoxystrobin at 450 ppm *in vitro* inhibited 100 % of the conidial germination and 96 % of mycelium growth at 1250 ppm. The effective concentration 95 (EC₉₅) for germination and micelial growth was 138 y 1203 ppm, respectively. Azoxystrobin at 1250 ppm, *in vivo*, reduced fruit rot to 42 % compared with 94 % in untreated control untreated fruits. The therapeutic effectiveness of azoxystrobin was 55 % in young fruits, up to 7 cm long, naturally infected and with symptoms of swellings. Most of untreated fruits (94 %) died by FP, whereas 52 % of the treated fruits, reached an irregular maturity with fewer seeds. This is the first report of the curative action of a fungicide on *M. roreri*, and indicates the possible incorporation of azoxystronin in integrated disease and crop management programs.

Key words: Moniliasis, strobirulins, chemical control, curative effect.

INTRODUCCIÓN

Moniliophthora roreri (Cif y Par.) Evans *et al.*, es el agente causal de la moniliasis del cacao (*Theobroma cacao* L.), se originó en el noreste de Colombia (Phillips-Mora y Wilkinson, 2007) y es una de las enfermedades más destructivas en los principales países americanos productores de cacao. Esta enfermedad fue consignada por primera vez en Colombia en 1817 (Phillips-Mora, 2003); cien años más tarde se reportó en Ecuador en 1917 (Rorer, 1918), en Venezuela en 1941 (Muller, 1941), en Perú en 1950 (McLaughlin, 1950), y en Panamá en 1956 (Orellana, 1956). Así quedó la enfermedad aparentemente estacionada y hasta después de 22 años se consignó en Costa Rica (Enríquez y Suárez, 1978), Nicaragua en 1980 (López y Enríquez, 1980), Honduras en 1997 (Porrás y Enríquez, 1998), Guatemala en 2002 (Phillips-Mora y Wilkinson, 2007), Belice en el 2004 (Phillips-Mora *et al.*, 2006b). A México entró la enfermedad en el 2005 y recientemente en México (Phillips-Mora *et al.*, 2006a; Phillips-Mora y Wilkinson, 2007).

El patógeno fue originalmente descrito por Ciferri y Parodi (1933), y llamado como *Monilia roreri*. Sin embargo, Evans *et al.* (1978) encontraron la presencia de septos tipo doliporo (característico de hongos basidiomycetes) e inconsistencia en el proceso de formación de conidios en relación al género *Monilia*, lo que condujo a su reubicación y renombración como *Moniliophthora roreri*.

Según Evans (1981) y Phillips-Mora y Wilkinson (2007) *M. roreri* ataca frutos de cacao en cualquier estado de desarrollo. Los síntomas varían con la edad del fruto al momento de la infección y la velocidad de desarrollo depende de las condiciones ambientales y la susceptibilidad de la variedad del cacao. Los síntomas externos en el fruto pueden incluir deformación externa o hinchamientos (*jibas*), lesiones acuosas, maduración prematura y manchas irregulares de color café oscuro (*mancha chocolate*). Los frutos infectados a edad temprana (*chilillos*) generalmente mueren. En infecciones avanzadas, el tejido interno del fruto se vuelve una masa compacta rodeada por una sustancia acuosa como resultado de la maceración, lo cual causa la pérdida total de las semillas. La *mancha chocolate* desarrolla a los 4-5 días una capa blanca de micelio la cual se torna oscura debido a la maduración de

esporas. Aproximadamente tres meses después, los frutos infectados se secan, momifican y permanecen adheridos al árbol como principal fuente de inóculo durante largo tiempo. Las esporas son producidas en gran abundancia sobre frutos enfermos (más de 7 billones por fruto) y son ampliamente distribuidas después de ser liberadas. Las esporas emiten tubos germinativos que se extienden sobre la epidermis y penetran por los estomas del fruto o de manera directa en todos los estados de su desarrollo fenológico. Posteriormente, hifas gruesas y delgadas crecen intercelularmente por debajo de la epidermis (Suárez, 1972). El periodo de incubación, desde la penetración hasta la aparición de los síntomas, es de 40 a 60 días y depende de la edad del fruto al momento de la infección y del cultivar (Desroiser y Suárez, 1974).

Las prácticas culturales han sido el método más aplicado para el combate de la MC. El uso de fungicidas ha sido una práctica poco empleada, debido a los erráticos resultados que se han obtenido (Evans, 1981) y al fluctuante precio del cacao que hacen incosteable la aplicación; sin embargo, la selección de fungicidas adecuados contra *M. royeri* podría dar resultados favorables (González *et al.*, 1983; Murillo y González, 1984).

En la búsqueda de productos químicos para combatir la MC, González *et al.* (1983) encontraron eficiencia parcial en el clorothalonil. Posteriormente Murillo y González (1984) y Ram (1989) obtuvieron resultado similar con el óxido cuproso; sin embargo, con este último, la incidencia de marchitez fisiológica (*Cherelle wilt*) aumentó y el clorathalonil resultó potencialmente tóxico (en clase I o II) a los operadores de acuerdo con la World Health Organization (WHO)/EPA. De manera similar, Laker (1991) evaluó el flutalonil para el control de escoba de bruja del cacao (*Moniliophthora perniciosa*), patógeno estrechamente relacionado a *M. royeri*, con buenos resultados. Por otro lado, Hidalgo *et al.* (2003) encontraron que el hidróxido de cobre redujo significativamente la incidencia de la MC. Posteriormente, 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 término de la estación; 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. Con estos antecedentes, en el

presente estudio se seleccionó al azoxystrobin (sistémico) y al hidróxido de cobre (protectante) como agentes de control químico.

El azoxystrobin es un fungicida sistémico con 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). Inhibe la germinación de esporas y crecimiento micelial, y puede ser usado como opción preventiva y curativa (Tomlin, 2000). En el presente trabajo se evaluó el azoxystrobin como agente curativo de *M. royeri*, en Tabasco, México, bajo la hipótesis de que el azoxystrobin posee efecto preventivo y erradicativo de *M. royeri* en infecciones tempranas de frutos juveniles (*chilillo*) permitiendo la formación de frutos comerciales.

MATERIALES Y MÉTODOS

La cepa de *M. royeri* se aisló de frutos de cacao en estado inicial de necrosis externa, procedentes del estado de 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 a metodología propuesta por Evans, (1981).

Identificación morfológica. Aislamientos monoconidiales de *M. royeri* se obtuvieron de colonias maduras de 10 días de edad y se cultivaron en medio V8 clarificado y se incubaron a 25 °C en oscuridad. La especie se identificó morfológicamente con las claves taxonómicas de Phillips-Mora *et al.* (2006a) y Evans (1981) de acuerdo al color de la colonia, forma del conidióforo, largo y ancho de conidios.

Identificación molecular. El ADN de *M. royeri* se obtuvo según la metodología de Ahrens y Seemüller (1992) y su calidad se evaluó en gel de agarosa al 1% (Agarosa Ultra Pure, Invitrogen®) y cuantificó en un espectrofotómetro Perkin Elmer® (Lambda BIO 10®). La

amplificación de las regiones ITS1 e ITS2 de los genes ribosomales (rRNA), localizadas entre la subunidad pequeña 18S rRNA-5.8S y la subunidad larga 5.8S-28S rRNA, se efectuó mediante la técnica de PCR utilizando los iniciadores universales ITS4 (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC) e ITS5 (GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G) (White *et al.*, 1990). La amplificación y visualización de los productos finales se realizó según protocolo de Ahrens y Seemüller (1992), con modificaciones en las reacciones de PCR cuyo volumen final fue de 25 µL [agua ultrapura estéril (13.22 µL), solución amortiguadora TBE 1X (2.5 µL) MgCl₂ a 2.5 mM (2.08 µL) dNTPs a 0.2 mM (2 µL), iniciadores ITS4 e ITS5 a 20 pmol (2 µL de cada uno), DNA polimerasa (Biogénica®) a 1U (0.2 µL) y muestra problema de ADN a 80 ng (1 µL)]. El producto amplificado fue purificado con el kit Wizard (Promega®) y enviado para secuenciación a Macrogen® en Seúl Corea del Sur. La secuencia obtenida se alineó con la base de datos del banco de genes del National Center for Biotechnology Information (NCBI, 2009) (www.ncbi.nlm.nih.gov/). De los valores generados, se consideró la mayor similitud para su comparación con la secuencia de estudio. La secuencia obtenida fue enviada al banco de genes del National Center for Biotechnology Information para su registro.

Evaluación *in vitro* del azoxystrobin.

El azoxystrobin (Amistar® 50% WG, Syngenta Crop Protection AG, Suiza) se evaluó *in vitro* a concentraciones de 0, 150, 300, 450, 600, 750, 900, 1050 y 1250 ppm (tratamientos), añadidos cuando el medio PDA (PDA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) alcanzó una temperatura de 50 °C (a medio líquido) (Zavala-León *et al.*, 2005) y se vació en cajas de Petri para su solidificación y uso.

Efectividad *in vitro* del azoxystrobin sobre la germinación de conidios de *M. royeri*.

Colonias de 10 días de edad fueron utilizadas para preparar una solución de 5x10⁶ conidios/ml, de la cual 30 µL se distribuyeron en tres regiones de la caja Petri con PDA. La suspensión de conidios se cubrió con cubreobjetos y las cajas fueron incubadas a 25 ±1°C. La germinación (%) se determinó con base en la lectura de 100 conidios por repetición (cinco repeticiones) y tratamiento (cada una de las concentraciones del fungicida). Las lecturas se realizaron inicialmente cada 2 h durante las primeras 24 h. Posteriormente, 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 μm).

Efectividad *in vitro* del azoxystrobin sobre el desarrollo micelial de *M. royeri*. De una colonia de 15 días de crecimiento se extrajeron discos de micelio de 5 mm de diámetro y transfirieron al centro de cajas Petri con PDA con las concentraciones del fungicida (cinco repeticiones por tratamiento) e incubaron a $25 \pm 1^\circ\text{C}$. El crecimiento micelial, medido (cm) en dos ejes (horizontal y vertical), se evaluó cada 24 h con ayuda de un vernier digital (Trupper®). Las mediciones terminaron a los dieciséis días, tiempo en que el testigo (sin fungicida) llenó la caja.

Los porcentajes de inhibición de la germinación y del crecimiento micelial *in vitro* se obtuvieron mediante la fórmula de Abbott (1925). Los datos fueron transformados al arcoseno de la raíz cuadrada del valor porcentual y sometidos a un análisis de varianza y prueba de separación de medias (Tukey; $P \leq 0.05$) mediante SAS (SAS, 1988). A partir de los porcentajes de inhibición obtenidos, se estimó la concentración efectiva 95 (CE_{95}) mediante Solver (Excel® Microsoft®).

Efectividad *in vivo* del azoxystrobin sobre frutos infectados por *M. royeri*. Frutos de cacao de uno a dos meses de edad, infectados naturalmente por *M. royeri* con hinchamientos superficiales (*jibas* pequeñas) se utilizaron para la evaluación del azoxystrobin en condiciones de campo. Los frutos fueron marcados y la mortalidad (número de frutos) se cuantificó semanalmente. Los tratamientos (azoxystrobin a 0 y 1250 ppm en dilución acuosa) se evaluaron bajo un diseño completamente al azar repetido dos veces en el tiempo. Cada unidad experimental consistió en 100 frutos juveniles (*chilillos*) (de hasta 7 cm de longitud) enfermos. El azoxystrobin se aplicó por aspersión dirigida únicamente al fruto juvenil una sola vez al inicio de cada ensayo. A 30 y 60 días después de la aplicación, los frutos fueron protegidos con hidróxido de cobre a 7500 ppm ($1500 \text{ g.i.a. ha}^{-1}$) (Bateman *et al.*, 2005), para evitar infecciones posteriores. Los frutos que llegaron a madurez de consumo se abrieron

longitudinalmente para documentar el arreglo de las semillas y los daños alcanzados por la enfermedad.

Los porcentajes de mortalidad final se transformaron al arcoseno de la raíz cuadrada y fueron sometidos a un análisis de varianza y prueba de separación de medias (Tukey; $P \leq 0.05$) mediante SAS (SAS, 1998). La efectividad del azoxystrobin en campo fue obtenida mediante la fórmula de Abbott (1925).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación morfológica y molecular. La colonia en medio V8 clarificado mostró un crecimiento inicial blanquecino, posteriormente se tornó color salmón-crema y finalmente café oscuro debido a la formación masiva de esporas. La colonia presentó conidióforos ramificados, dando lugar a una cadena de conidios con maduración basipétala. 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*.

La secuencia de ADN obtenida fue 100% homóloga al aislamiento de *M. roreri* de Costa Rica (Aime y Phillips-Mora, 2005) y 99% a los de Belice (Phillips-Mora *et al.*, 2006b) y México (Phillips-Mora *et al.*, 2006a;). El análisis molecular confirmó que el hongo causante de la MC en Tabasco, México es *Moniliophthora roreri*. La secuencia obtenida se registró con el número de acceso GenBank: GU108605.

Efectividad *in vitro* del azoxystrobín sobre la germinación de conidios y el crecimiento micelial de *M. roleri*.

El azoxystrobin a 450 ppm inhibió el 100% de la germinación de conidios (Cuadro 1); su CE₉₅ fue de 138 ppm. El desarrollo micelial de *M. roleri* fue inhibido en 90% a todas las concentraciones evaluadas (Cuadro 1); la mayor inhibición (96%) se obtuvo con la dosis de 1250 ppm con una CE₉₅ de 1203 ppm.

Cuadro 1. Efecto del azoxystrobin sobre la germinación de conidios y el desarrollo micelial *in vitro* de *Moniliophthora roleri* aislado de cacao (*Theobroma cacao*) en Tabasco, México. 2008.

Tratamientos	GERMINACION Eficacia Abbott ^y (% inhibición)		DESARROLLO MICELIAL Eficacia Abbott ^y (% inhibición)	
Testigo	---- ^z	----	---- ^z	----
Azoxystrobin 150 ppm	95.40±0.58	c	90.20±0.48	d
Azoxystrobin 300 ppm	98.95±0.01	b	90.52±0.27	d
Azoxystrobin 450 ppm	100	a	90.39±0.45	d
Azoxystrobin 600 ppm	100	a	90.49±0.39	d
Azoxystrobin 750 ppm	100	a	91.35±0.23	c
Azoxystrobin 900 ppm	100	a	92.02±0.29	c
Azoxystrobin 1050 ppm	100	a	93.32±0.16	b
Azoxystrobin 1250 ppm	100	a	95.60±0.41	a

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

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

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. roseri* 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. roseri* para causar la MC. En el presente estudio, el azoxystrobin inhibió *in vitro* la germinación de conidios y el crecimiento micelial, mostrando así la capacidad de restringir el potencial de *M. roseri* para infectar el tejido de la planta y causar la enfermedad.

Efectividad *in vivo* del azoxystrobin sobre frutos infectados por *M. roseri*.

El azoxystrobin a 1250 ppm mostró la menor mortalidad de frutos (42 %) con una eficiencia del 55 %, mientras que 94 % de los frutos testigo (sin fungicida) murieron. Los resultados permiten deducir el efecto terapéutico del azoxystrobin ya que se aplicó en frutos enfermos (\leq 2 meses de edad, en etapa temprana de infección) y el 51 % se recuperaron de la infección (Figura 1, Cuadro 2).

Los frutos enfermos tratados que alcanzaron la madurez de consumo presentaron disminución número de semillas y fallas en el desarrollo de las mismas (Figura 2), semejante a lo observado por Evans (1981) en frutos infectados por *M. roseri* en etapa de *chilillo*. En el testigo, el 6% de los frutos alcanzaron la madurez de consumo, lo cual pudo deberse a resistencia natural.

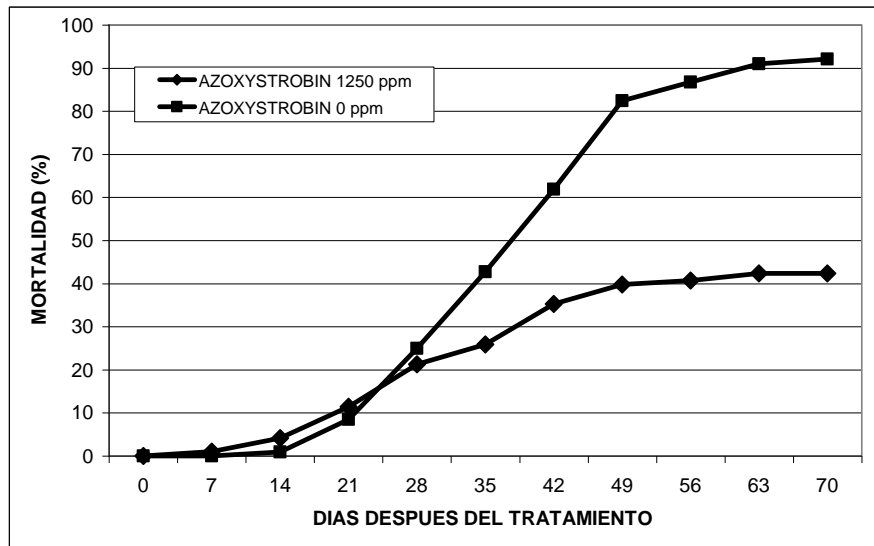
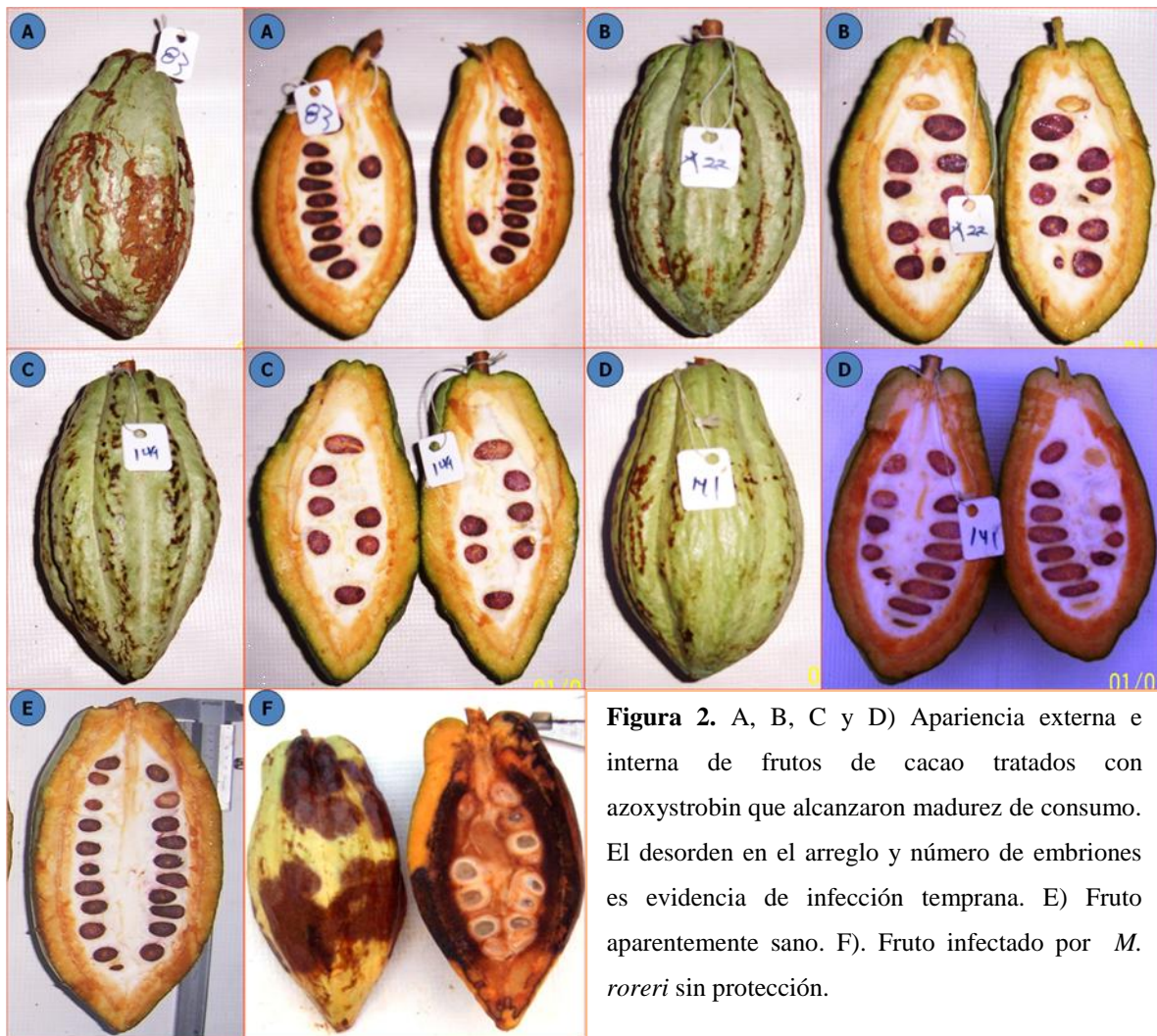


Figura 1. Efecto del azoxystrobin sobre el porcentaje (%) de frutos de cacao (*Theobroma cacao*) infectados por *Moniliophthora roreri* en Tabasco, México. 2008.

Tratamientos	Nº frutos muertos	
Testigo	93.55 ± 0.28	a
Azoxystrobin 1250 ppm	42.37 ± 16.68	b

Cuadro 2. Efecto terapéutico del azoxystrobin aplicado sobre frutos de cacao de ≤ 2 meses de edad, en etapa temprana de infección natural por *Moniliophthora roreri*, en Tabasco, México. 2008.



En condiciones favorables, las esporas de *M. royeri* emiten tubos germinativos que se extienden sobre la epidermis y penetran de manera directa (Flores-Mora, 1989). Las hifas crecen intercelularmente bajo la epidermis, y el periodo de incubación desde la penetración hasta la aparición de los síntomas es de 40 a 60 días (Suárez, 1972; Desroiser y Suárez, 1974). 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 bc_1 (Brandt *et al.*, 1988; Anke, 1995). Esto puede explicar la efectiva acción de este fungicida sobre la supresión del crecimiento de *M. royeri* dentro del fruto en etapa temprana de desarrollo (*chilillos*). El efecto supresivo del

crecimiento micelial dentro del tejido del hospedero es un objetivo importante en el manejo de enfermedades (Reuveni y Sheglov, 2002). Este es el primer reporte de la acción curativa de un fungicida sobre *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, esto puede ser explicado por la forma imprecisa de evaluación, ya que los fungicidas se aplicaron a poblaciones de frutos de diferentes edades y estados de infección; lo cual puede conducir a subestimar el efecto de los productos evaluados.

Los trabajos más recientes sobre evaluaciones de fungicidas (flutolanil e hidróxido de cobre) para el control de la MC fueron realizados por Hidalgo *et al.* (2003) y Bateman *et al.* (2005) con enfoques y metodologías diferentes a la presente evaluación en la que se confirmó parcialmente la hipótesis de que el azoxystrobin, por su acción translaminar, puede, en etapas tempranas de infección, actuar sobre el patógeno en el interior del *chilillo* liberándolo de la infección y protegiéndolo de infecciones posteriores. Este trabajo también valida la conveniencia de aplicar el hidróxido de cobre, combinado con el azoxystrobin para mejorar la eficiencia del control químico, ya que con este tratamiento el 51% de los frutos tratados se recuperaron de la infección y alcanzaron madurez de consumo (Figura 2).

Laker y Rudgard (1989) mencionaron que existen posibles riesgos de que se acumulen residuos de compuestos químicos sistémicos en granos de cacao, lo cual sugiere la conveniencia de utilizar el azoxystrobin una sola vez en cada ritmo fenológico de producción por ciclo de cultivo. Según Rouveni y Sheglov (2002) el uso de fungicidas de diferentes modo de acción puede minimizar los riesgos de desarrollo de resistencia y mejora el control enfermedades, por lo que el azoxystrobin se aplicó una sola vez en frutos de 1 a 2 meses de edad, acompañado de dos aplicaciones posteriores de hidróxido de cobre como protectante de los frutos curados de acuerdo con criterios recomendados por Bateman *et al.* (2005) para la MC.

LITERATURA CITADA

- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18:256-267.
- Ahrens, U., and Seemüller, E. 1992. Detection of DNA of plant pathogenic mycoplasma like organism by polimerase chain reaction that amplifies a secuencia of the 16S rRNA gene. *Phytopathology* 82:828-832.
- 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. *Mycology* 97:1012-1022.
- Anke, T. 1995. The antifungal strobilurins and their possible ecological role. *Canadian Journal of Botany* 73:940-945.
- 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.
- 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.
- 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.

- 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.
- Delgado, J.C. 1963. Efecto de diversas dosis de oxido cuproso y zineb aplicados a bajo volumen en el control de la monilia en el cacao. Turrialba CR. 13:129-131.
- Evans, H.C., Stalpers, J. A., Samson, R.A., and Benny, G.L. 1978. On the taxonomy of *Monilia roleri*: 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 (Monilia) roleri*. Phytopathological Papers 24:1-44.
- Flores-Mora, D.M. 1989. Estudio ultramicroscópico del proceso de infección de *Moniliophthora roleri* 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. 84 p.
- 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.
- 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 roleri*. European Journal of Plant Pathology 109:953-961.
- 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, R. 1954. Fisiología de la germinación de esporas de *Monilia* sp. Cacao en Colombia 3:183-207.
- 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.
- NCBI. 2009. National Center for Biotechnology Information (www.ncbi.nlm.nih.gov).
- 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., Cawich, J., Garnett, W., and Aime, M.C. 2006b. First report of frosty pod rot (moniliasis disease) caused by *Moniliophthora roreri* on cacao in Belize. *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.
- Ram, A. 1989. Biology, epidemiology and control of moniliasis (*Moniliophthora roreri*) of cacao. PhD Thesis, University of London, London. 313 pp.
- 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.
- Rorer, J.B. 1918. Ecuador cacao (Parte 1). *Tropical Agriculture, Trinidad* 3:46–7.
- SAS Institute Inc., 1988. SAS User's Guide: Statistics. Release 6.03 Ed. SAS Institute INC. Cary, NC. USA. 1028 p.

- Suárez, C. 1972. Mecanismo de penetración y proceso de infección de *Monilia rozeri* Ciferri y Parodi en frutos de cacao (*Theobroma cacao* L.). Report, Fourth International Cocoa Research Conference, Trinidad and Tobago, pp. 506-510.
- Suárez, C.C. 1982. El Problema de la Moniliasis y su Combate en el Ecuador. pp. 70-78. In Enriquez, G.A. Ed. La Moniliasis del Cacao. CATIE Serie Técnica. Costa Rica.
- 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. 1250 p.
- White, T.J., Bruns, T.D., Lee, S., and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal DNA genes for phylogenetics. pp. 315–322. In: Innis, M.A., Sninsky, D.H., White, T.J., eds. PCR Protocols. London: Academic Press.
- Zavala-León, M.J., Tun-Suárez, J.M., Cristóbal-Alejo, J., Ruíz-Sanchez, 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.

CAPÍTULO IV.

PROGRESO TEMPORAL Y MANEJO INTEGRADO DE LA MONILIASIS (*Moniliophthora roreri*) DEL CACAO (*Theobroma cacao*) EN TABASCO, MÉXICO

RESUMEN

La moniliasis (*Moniliophthora roreri*), es la principal limitante parasítica en la producción de cacao (*Theobroma cacao*) en Tabasco, México. Por su importancia económica y social se estudió el progreso temporal y manejo integrado de la enfermedad en la entidad. El progreso temporal se obtuvo mediante la estimación del porcentaje de frutos enfermos en tres flujos de fructificación en el ciclo productivo 2008-09. Se comparó un manejo tradicional (MT) contra un Manejo Integrado del Cultivo (MIC) en dos sistemas de sombra (50 y 70 %). Tres epidemias ocurrieron de mayo de 2008 a abril de 2009, con pérdidas superiores al 70 % de la producción. Las epidemias ocurrieron durante 11 meses consecutivos asociadas con temperaturas de 20 - 26.9 °C ($r=0.76$) y humedad relativa mayor a 90 % ($r=0.76$) 49 días antes de la aparición de los síntomas. Las epidemias también se relacionaron positivamente con la densidad de esporas de *M. roreri* en el aire ($r=0.74$), 38 días antes de la muerte del fruto lo cual coincidió con el periodo de incubación. La densidad de conidios en el aire se asoció positivamente con temperatura > 35 °C ($r=0.78$) y humedad relativa menor al 60 % ($r=0.76$). Los conidios en el aire ocurrieron durante todo el año, sin embargo, la mayor cantidad de esporas se presentó en la época seca (abril-mayo). El tratamiento MIC con 50 % de sombra mostró una efectividad de protección del 90 %. La reducción de la sombra al 50 % redujo la incidencia en 20 %. Los resultados sugieren la conveniencia del manejo independiente de las tres epidemias con las siguientes medidas de control integrado: reducción de la sombra al 50% (árboles de sombra), poda de ramas laterales e internas y reducción de la altura del árbol de cacao a 4 m, eliminación total de frutos en periodo de baja producción (purga), una sola aplicación de azoxystrobin (250 g.i.a.ha⁻¹) a frutos menores de dos meses de edad, y después, tres aspersiones mensuales con hidróxido de cobre (1500 g.i.a.ha⁻¹); eliminación semanal de

frutos enfermos, tratamiento de frutos eliminados y residuos de cosecha con urea al 15 %, control de maleza, y mejoramiento de drenaje.

Palabras claves: Epidemiología, Frosty pod rot, Manejo integrado.

ABSTRACT

Frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*) of cocoa is the main parasitic limitation in cocoa production in Tabasco, Mexico; therefore, its temporal progress and integrated management was studied in Tabasco. The disease temporal progress curve was obtained through the estimation of the percentage of diseased fruits in three fruit flushes in the production cycle. A conventional management was compared to an Integrated Crop Management (ICM) under two shade systems (50 and 70%). Three epidemics occurred from May 2008 to April 2009 with losses of over 70% of the production. The epidemics occurred during 11 consecutive months associated ($r=0.76$) with cool temperatures (20-26.9 °C) and relative humidity (higher than 90%) ($r=0.76$) 49 days prior to the appearance of dead fruits. The epidemics were positively associated with air-spores density, 38 days prior to pod death. Conidia occurred throughout the year with higher density during the dry season (april-may). Number of conidia in the air was associated ($r=0.74$) with high temperatures ($> 35^{\circ}\text{C}$) and relative humidity lower than 60%. ICM treatment with 50% shade showed a protection effectiveness of 90%. The reduction of shade to 50% alone reduced the incidence of frosty pod rot by 20%. The results suggest the convenience of independent management of the epidemics and the following integrated control measures, in each of the three fruit flush periods: reduction of shade to 50%, pruning of lateral and internal branches, reduction of tree height to 4 m, total elimination of fruits in the low production period (purge), a single application with azoxystrobin (250 a.i.g.ha⁻¹) to fruits under two months of age, and three monthly covering sprays with copper hydroxide (1500 a.i.g.ha⁻¹); weekly removal of diseased fruits, treatment of eliminated fruits and harvested litter with 15% urea, weed control and improvement of soil drainage,

Key words: Epidemiology, Moniliasis, Integrated crop management.

INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es uno de los principales recursos agrícolas de Tabasco, México. Se cultiva en 41,086 ha distribuidas en 10 municipios y 29,505 familias dependen económicamente de este cultivo (OEIDRUS, 2008). La enfermedad del cacao más importante en Tabasco era la mancha negra causada por *Phytophthora capsici* (Ortiz, 1996). En abril del 2005, se reportó por primera vez en Tabasco, México la moniliasis del cacao (MC) causada por el hongo *Moniliophthora roreri* (Cif y Par.) Evans *et al.* (Phillips-Mora *et al.*, 2006). Para 2007 esta enfermedad había invadido todas las regiones productoras de cacao del estado, convirtiéndose en su principal limitante parasítica.

M. roreri solo ataca frutos. Causa necrosis interna y externa (*mancha chocolate*), y la pérdida total de la mazorca. Sobrevive en frutos 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). Este hongo tiene la capacidad de reducir la producción hasta en un 80% en Costa Rica (Hidalgo *et al.*, 2003; Phillips-Mora *et al.*, 2005), Ecuador y Colombia (Ampuero, 1967).

Las medidas de control de *M. roreri* que se han aplicado de manera separada incluyen: remoción semanal de frutos enfermos (González *et al.*, 1983; Soberanis *et al.*, 1999; Krauss *et al.*, 2003), remoción total de frutos en época de baja producción o al final de la principal etapa de producción (González *et al.*, 1983; Bateman *et al.*, 2005), poda, eliminación de renuevos, control de maleza, mejoramiento de drenaje (Barros, 1966), cosecha oportuna de frutos (Bateman *et al.*, 2005), poda de árboles de sombra (Galindo, 1984), control biológico (Krauss y Soberanis, 2002) y químico (González *et al.*, 1983; Murillo y González, 1984; Bateman *et al.*, 2005) y resistencia genética (Phillips-Mora *et al.*, 2005).

No existen estudios epidemiológicos de la MC en México que permitan establecer estrategias efectivas de control, basadas en la aplicación aislada o integrada de los principios de control; por lo que el presente trabajo tuvo la finalidad de conocer el progreso temporal de la enfermedad y desarrollar un programa de manejo integrado de la moniliasis del cacao

aplicable a las zonas cacaoteras de Tabasco, bajo la hipótesis de que 1) *M. roreri* depende de las condiciones microambientales y es condicionada por la fenología de los estados reproductivos. 2) La integración de estrategias de erradicación basadas en métodos culturales, químicos y físicos resultará en una efectividad del manejo de la enfermedad superior al 50% comparado con la tecnología regional promedio.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación 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 esta plantación se delimitaron dos áreas experimentales, una para estudiar el progreso temporal de la enfermedad y otra para estudiar su manejo integrado.

Progreso temporal de la enfermedad. Se delimitó una parcela con manejo tradicional (2,214 m²). La parcela experimental consistió en un área rectangular de 10 x 18 árboles, de los cuales solo 4 x 12 árboles centrales fueron evaluados. Las evaluaciones se desarrollaron durante un ciclo completo de producción (mayo 2008 a abril 2009). En Tabasco se presentan tres épocas de producción de fruta al año (Yanes, 1994); en cada una se registró el amarre de frutos, en una población de frutos jóvenes de 1.5 a 2 meses de edad (80 a 100 mm de longitud) (Phillips-Mora, *et al.*, 2005). Frutos muertos menores a 80 mm fueron atribuidos a *Cherelle wilt*, un desorden fisiológico que afecta frutos jóvenes e impide distinguir con certeza la enfermedad en este estado (Bateman *et al.*, 2005). La incidencia de frutos que manifestaron mancha color marrón de borde irregular (*mancha chocolate*) y esporulación como síntomas externos de la MC se cuantificó semanalmente según propuesta de Sánchez y González (1989). Durante la evaluación se continuaron realizando las prácticas agronómicas locales de eliminación de renuevos y maleza, combate químico (sulfato de cobre) de *P. capsici*, eliminación parcial de frutos enfermos cada 15 días durante el periodo de cosecha. En cada una de las tres épocas de producción se graficó la curva del progreso acumulado de la enfermedad.

Monitoreo meteorológico. Se registró la temperatura cada dos horas, con una estación meteorológica automática provista de una consola Weather wizard III[®] (Davis Instruments[®]) instalada en la plantación experimental, a 100 m de la parcela útil. La humedad relativa se registró con un “data logger” (Hobo H8[®], Onset Instruments, Pocasset, MA, U.S.A) cada dos horas. La información meteorológica de la consola y del “data logger” se exportaron a una hoja de cálculo (Excel[®] de Microsoft[®]) para su análisis.

Monitoreo de *Moniliophthora roreri*. La densidad de conidios de *M. roreri* en el aire se cuantificó diariamente por medio de una trampa volumétrica provista en su interior de un tambor giratorio de higrotermógrafo con periodicidad de siete días (Mora *et al.* 1998). La trampa se instaló a 1.8 m sobre el nivel del suelo y se ubicó en el centro de la parcela útil. Las esporas succionadas se capturaron por impacto en una cinta adhesiva transparente de polipropileno (Contac[®]) la cual se ajustó alrededor del tambor. Las cintas, cortadas en segmentos correspondientes a periodos de 24 horas y marcadas a intervalos de 2 horas, se montaron en portaobjetos y se examinaron bajo microscopia de luz con aumento de 40 x 10. Se cuantificaron las esporas que se encontraron en un transecto de 8 mm. La trampa, con capacidad volumétrica de 2.9 L min⁻¹, estuvo activa las 24 horas del día durante el tiempo que duró la evaluación.

Análisis temporal. La epidemia para cada época de producción se caracterizó mediante el modelo de distribución Weibull (Pennypacker *et al.*, 1980) simplificada a dos parámetros (b y c) (Thal *et al.*, 1984). La tasa de infección aparente se estimó por el inverso del parámetro b (b^{-1}) y la forma de la curva por el parámetro c . La intensidad de cada epidemia se estimó mediante el cálculo del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) por el método de integración trapezoidal (Campbell y Madden, 1990) y se obtuvieron los valores de la incidencia inicial (Y_0) y acumulada final (Y_f) de cada epidemia.

Correlaciones. La incidencia de la enfermedad se relacionó, mediante la estimación del coeficiente de correlación de Pearson (r), con la densidad conidial de *Moniliophthora roreri* en el aire, y con variables ambientales que consideraron su duración en h/semana/mes, en los siguientes intervalos: temperatura (< 20, 20 - 26.9, 27 - 29.9, 30 - 34.9 y > 35 °C), y humedad relativa (< 60, 60 - 90 y > 90 %).

Comparación de Manejos de la parcela experimental. Se comparó un manejo tradicional (MT) contra un Manejo Integrado del Cultivo (MIC) en dos etapas fenológicas sucesivas de fructificación, en el mismo año productivo y plantación. Cada parcela experimental consistió en 180 árboles en un rectángulo de 10 x 18 árboles (2,214 m²). Los tratamientos fueron aplicados al total de árboles de la parcela, de los cuales 4 x 12 =48 árboles centrales fueron evaluados (Bateman *et al.*, 2005). Un total de ocho parcelas se establecieron con un diseño factorial, completamente al azar, con dos repeticiones. Los factores fueron: dos regímenes de sombras (70 y 50%) y dos sistemas de manejo. Por cada régimen de sombra se establecieron cuatro parcelas, dos fueron sometidas a una estrategia MIC y dos conservaron el MT. Los tratamientos fueron: 1) MT-70% sombra, 2) MT-50% sombra, 3) MIC-70% sombra y 4) MIC-50% sombra, dentro de los cuales se establecieron las acciones de manejo que se enlistan en el Cuadro 1.

Dos años antes de la evaluación se realizó poda y raleo controlado en el número de árboles de sombra de la plantación. La radiación fotosintéticamente activa (RAFA) se midió durante las evaluaciones utilizando un medidor de RAFA modelo BQM-SUN-5133[®] (Spectrum Technologies, Inc.). Diez lecturas se registraron mensualmente a través de dos líneas transversales dentro de cada parcela útil, sobre y debajo de la copa del árbol de cacao (4 y 1.5 m respectivamente), así como a pleno sol al inicio y final de cada medición para obtener la RFA incidente.

Cuadro 1. Calendario agronómico comparativo anual de las técnicas de manejo integrado (MIC) y tradicional (MT).

EPOCA DE PRODUCCION	ACCIONES DE MANEJO	MT	MIC
Fin de cosecha tercera población (abril-mayo)	Control de maleza (abril).	Si	Si
	Poda de ventilación y porte de árboles de cacao (mayo).	No	Si
	Eliminación de renuevos (mayo).	Si	Si
	Eliminación total de frutos (Purga) (mayo).	No	Si
Primera población de frutos (junio- septiembre)	Aspersión de azoxystrobin, 250 g.i.a.ha ⁻¹) solo a frutos menores a dos meses de edad (junio).	No	Si
	Eliminación semanal de frutos enfermos (junio-septiembre).	No	Si
	Eliminación quincenal de frutos enfermos (solo en periodo de cosecha).	Si	No
	Tratamiento de frutos eliminados y residuos de cosecha con solución de urea al 15%.	No	Si
Segunda población de frutos (agosto-enero)	Aspersión de azoxystrobin (250 g.i.a.ha ⁻¹) solo a frutos menores a dos meses de edad (agosto).	No	Si
	Aspersión mensual de hidróxido de cobre (1500 g.i.a.ha ⁻¹) (septiembre - noviembre).	No	Si
	Eliminación semanal de frutos enfermos (agosto-enero).	No	Si
	Eliminación quincenal de frutos enfermos (solo en periodo de cosecha).	Si	No
	Tratamiento de frutos eliminados y residuos de cosecha con aspersión de una solución de urea al 15%.	No	Si
	Mejoramiento de drenaje (agosto).	Si	Si
	Control de maleza (septiembre).	Si	Si
Control de Mancha negra (<i>Phytophthora capsici</i>) (noviembre).	Si	No	
Tercera población de frutos (diciembre-abril)	Aspersión de azoxystrobin (250 g.i.a.ha ⁻¹) solo a frutos menores a dos meses de edad (diciembre).	No	Si
	Aspersión mensual de hidróxido de cobre (1500 g.i.a.ha ⁻¹) (enero-marzo).	No	Si
	Eliminación semanal de frutos enfermos (diciembre-marzo).	No	Si
	Eliminación quincenal de frutos enfermos (solo en periodo de cosecha).	Si	No
	Tratamiento de frutos eliminados y residuos de cosecha con solución de urea al 15%.	No	Si

Manejo tradicional. El MT consistió en control mecánico de maleza, rehabilitación del drenaje, eliminación mecánica de renuevos, control químico de *Phytophthora capsici* con sulfato de cobre (2 kg ha^{-1}) en época de lluvias y eliminación quincenal de frutos enfermos sólo durante el periodo de cosecha (Cuadro 1).

Manejo integrado del Cultivo. El MIC, además del control de maleza, mejoramiento de drenaje y eliminación de renuevos, se diferenció en que la remoción de frutos enfermos fue semanal, se evitó el intercalamiento de copas de árboles de cacao mediante poda de ramas laterales e internas, disminución de altura a 4 m, eliminación total de frutos en periodo de baja producción (purga), tratamiento de frutos eliminados y residuos de cosecha con solución de urea al 15%; control químico de la MC con azoxystrobin ($250 \text{ g.i.a.ha}^{-1}$) cuya efectividad biológica se verificó previamente *in vitro* (ver capítulo III de esta tesis) con una aplicación dirigida a frutos menores de dos meses de edad y tres aspersiones mensuales posteriores con hidróxido de cobre ($1500 \text{ g.i.a.ha}^{-1}$) (Bateman *et al.*, 2005). Los fungicidas se aplicaron a los frutos utilizando aspersora manual de mochila (Cuadro 1).

Durante las dos épocas de mayor producción (julio, 2008 a marzo, 2009), se registró el amarre de frutos, delimitándose por época de producción, una población de frutos jóvenes (80 a 100 mm). Frutos muertos menores de 80 mm fueron atribuidos a *Cherelle wilt*, un desorden fisiológico que causa marchitez y necrosis de frutos de cacao en etapa juvenil e impide definir con certeza la causa de la muerte [mediante incubación de tejido necrosado en medio de cultivo PDA (PDA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) y en cámara húmeda, se verificó que estos frutos no presentaron infección por *M. royeri*]. Se cuantificó semanalmente el número de frutos que manifestaron *mancha chocolate* y esporulación como síntomas externos de MC. Con la incidencia de frutos enfermos (Phillips-Mora *et al.*, 2005) en cada época de producción se graficó la curva del progreso acumulado.

Efecto de tratamientos. Para medir y comparar el desarrollo de la enfermedad entre los dos regímenes de sombra (70 y 50%) y dos sistemas de manejo (MIC y MT), se realizó un análisis de varianza bajo un diseño factorial con el procedimiento PROC GLM de SAS (SAS, 1988) para ABCPE, parámetro b^{-1} e incidencia acumulada final (Y_f) de cada epidemia/parcela. Se

aplicó la prueba de separación de medias (Tukey $P= 0.05\%$) en aquellos tratamientos en que la prueba de F fue significativa (Little y Hills, 1998).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Progreso temporal. Se registraron tres epidemias en concordancia con igual número de etapas fenológicas de amarre de frutos que se presentaron durante el año de evaluación (2008-09) (Figura 1). Las epidemias coincidieron con periodos de producción denominados regionalmente como: “Venturero loco” (15 junio-15 septiembre), “Alegrón-invernada” (16 septiembre-15 de febrero) y “Cosecha” (febrero-junio), descritas previamente por Yanes (1994).

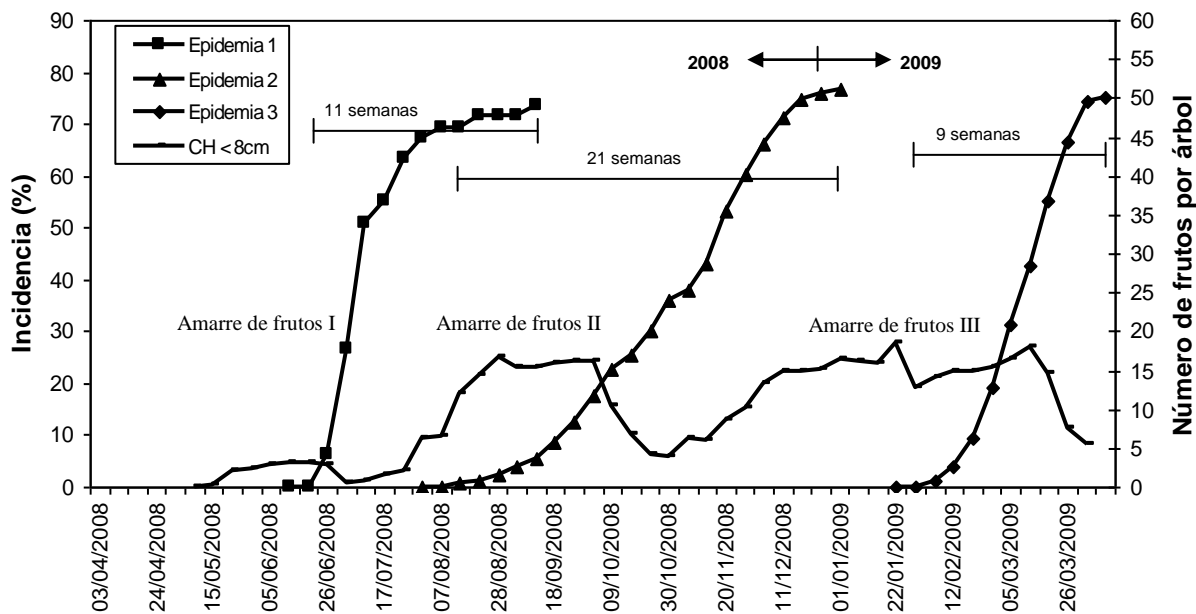


Figura 1. Curvas del progreso temporal de epidemias de moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (*Theobroma cacao*) en una plantación con manejo tradicional en Tabasco, México, durante un año de producción (2008-2009). CH = Chilillos (frutos juveniles).

En la epidemia uno (etapa de amarre I), el inicio de la enfermedad (Y_0) se observó a finales de junio y la incidencia final (Y_f) se alcanzó a la mitad de septiembre. La Y_0 en la epidemia dos (etapa de amarre I), se presentó a principios de agosto y la Y_f en la primera semana de enero. En la epidemia tres (etapa de amarre III), la Y_0 se manifestó en la primera semana de febrero y la Y_f en la segunda semana de abril. La separación marcada de las epidemias sugiere la posibilidad de manejar independientemente cada epidemia con acciones integradas que reduzcan la incidencia de la MC en la etapa reproductiva de mayor importancia económica. La MC ocurrió durante 11 meses consecutivos, lo cual indicó que existen las condiciones favorables para la infección continua durante todo el año en Tabasco.

Las epidemias de la MC fueron descritas por el modelo de Weibull (Cuadro 2). La epidemia uno tuvo una $r^2 = 0.94$ y las epidemias dos y tres una r^2 de 0.99. La Y_f en las tres epidemias afectó al 75% de los frutos en promedio de cada ritmo reproductivo (Cuadro 2). Las tasas de infección aparente (b^{-1}) fluctuaron entre 0.0078-0.0159, donde la epidemia tres mostró la tasa más alta. Los valores de intensidad de epidemias (ABCPE) fluctuaron entre 514-536, donde la segunda epidemia fue la más intensa. Incidencias de MC superiores al 70% y bajo condiciones naturales de campo ocurrieron en Costa Rica (Hidalgo *et al.*, 2003; Phillips-Mora *et al.*, 2005) y coinciden con la incidencia ocurrida en el presente trabajo (Cuadro 2).

Cuadro 2. Parámetros epidemiológicos de curvas del progreso temporal de epidemias de la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (*Theobroma cacao*) en Tabasco, México.

EPIDEMIA	ABCPE Absoluta	Y_f	b^{-1}
1	514.30	73.47	0.03061 ^y ($r^2 = 0.9498$)
2	536.25	76.70	0.00786 ($r^2 = 0.9926$)
3	522.30	74.94	0.01594 ($r^2 = 0.9909$)

^y La tasa de infección se obtuvo mediante análisis de regresión del modelo de Weibull. ABCPE = Área bajo la curva del progreso de la enfermedad. Y_f = Incidencia acumulada final. b^{-1} = Tasa de infección aparente.

Correlaciones. La incidencia de la enfermedad se asoció positivamente con temperaturas frescas (20-26.9 °C) ($r=0.76$) y humedad relativa mayor a 90 % ($r=0.76$), las cuales se presentaron 49 días antes de la aparición de los síntomas y reflejaron condiciones ambientales favorables para etapas críticas de infección en Tabasco, México. Los resultados anteriores concordaron con Merchán (1981), quien encontró correlación positiva entre la incidencia de la MC y la humedad relativa, 60 días anteriores a la aparición de síntomas.

La incidencia de la moniliasis también se relacionó positivamente con la densidad de esporas de *M. royeri* en el aire ($r=0.74$), 38 días antes de la muerte del fruto lo cual representa el periodo de incubación de este patógeno. Al respecto, Evans (1981) mencionó que una de las características de la MC es el prolongado periodo de incubación desde la penetración hasta la aparición de síntomas. Desrosiers y Suárez (1974), encontraron que la aparición de síntomas (penetración e invasión intercelular e intracelular) ocurrió en 40 días cuando los frutos fueron infectados a 20, 30 y 60 días de edad. En frutos inoculados a 80 días de desarrollo, los síntomas se presentaron en 60 días.

El número de días en que la enfermedad se relacionó con la temperatura y humedad relativa presentó una diferencia de 11 días con respecto al número de días en que se relacionó la incidencia de la moniliasis (aparición de lesiones necróticas) con la densidad de esporas. Esta diferencia puede ser explicada por el número de días que el hongo requiere para la esporulación después de la aparición de las lesiones. *M. royeri* requiere de tres a ocho días después de la aparición de la lesión para la formación de propágulos (Evans, 1981). Tomando en cuenta lo anterior, el periodo de incubación de *M. royeri* (desde la penetración hasta la aparición de los síntomas) es de 38 días, el periodo de latencia (desde la penetración hasta la producción de propágulos) es de 46 días y el periodo infeccioso (tiempo de producción y viabilidad de las esporas secundarias para causar infecciones secundarias), de acuerdo con Phillips-Mora (2003) y Evans (1981) alcanza los siete meses en frutos momificados que quedan en el árbol.

Los conidios en el aire ocurrieron durante todo el año; sin embargo, la mayor cantidad de esporas se presentó en la época seca (abril-mayo). La densidad de conidios en el aire se asoció positivamente con temperaturas altas ($> 35\text{ }^{\circ}\text{C}$) ($r=0.78$) y humedad relativa menor al 60 % ($r=0.76$). Al respecto, Meléndez y Somarriba (1999) encontraron que la mayor cantidad de esporas ocurrieron a humedades relativas menores a 80 % y temperaturas mayores a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$. Según Porras (1982) y González, (1981), altas temperaturas ($> 35^{\circ}\text{C}$) y baja humedad relativa favorecen la desecación y la dispersión de las esporas.

Manejo de la Moniliasis. Se encontraron diferencias significativas en el ABCPE ($P=0.0004$), b^{-1} ($P=0.0003$) y Y_f ($P=0.0004$) entre el MT y el MIC (Cuadro 3, Figura 2). El MT con 70% de sombra registró los valores más altos de la enfermedad en los tres parámetros evaluados (ABCPE, b^{-1} , y Y_f) (Cuadro 3, figura 2). Los tratamientos MIC tuvieron la menor ABCPE, b^{-1} , y Y_f en los dos ciclos; el MIC con 50% de sombra tuvo los valores más bajos (53.96-27.18; 0.0021-0.0051 y 7.71-4.17, respectivamente) (Cuadro 3, Figura 2).

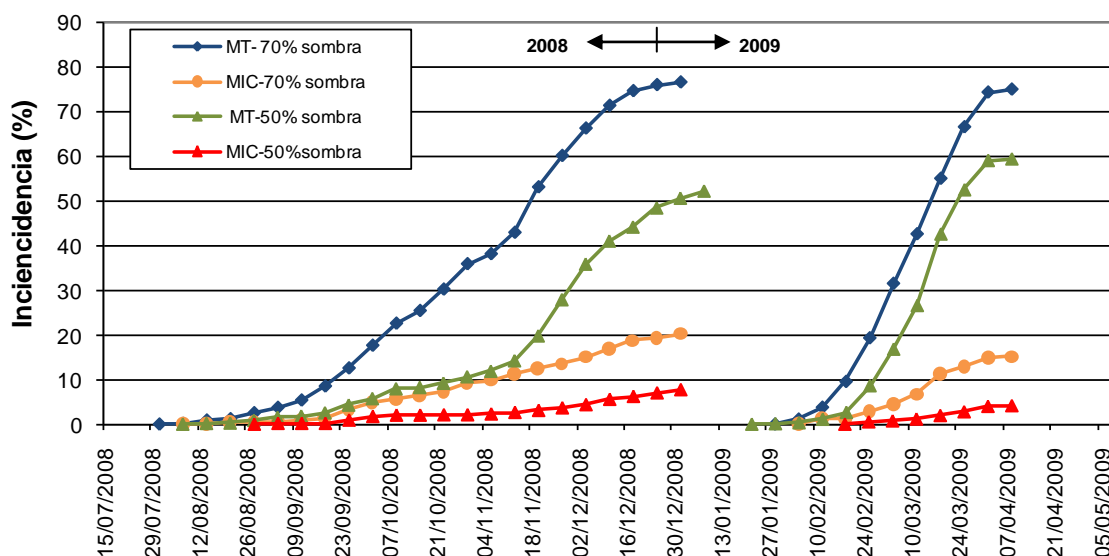


Figura 2. Curvas del progreso temporal de epidemias de moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (*Theobroma cacao*), en Tabasco, México. (2008-2009). MT = Parcela con manejo tradicional y MIC = Parcela con manejo integrado. Se resalta la dilación por 28 días de la epidemia MIC-50% sombra en las dos repeticiones.

Cuadro 3. Efecto de tratamientos sobre los parámetros del progreso temporal de epidemias de moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (*Theobroma cacao*) en Tabasco, México.

PARÁMETROS EPIDEMIOLOGICOS			
Evaluación 1			
TRATAMIENTOS	ABCPE^z Absoluta	Y_f^z	b^{-1z}
MT-70% sombra	536.18 a	76.35 a	0.00786 (r ² =0.9926) a
MT-50% sombra	360.61 b	52.30 b	0.00590 (r ² =0.9805) b
MIC-70% sombra	141.74 c	20.25 c	0.00288 (r ² =0.9870) c
MIC-50% sombra	53.96 c	7.71 d	0.00210 (r ² =0.9735) c
Evaluación 2			
MT-70% sombra	522.28 a	74.94 a	0.01594 (r ² =0.9909) a
MT-50% sombra	415.15 b	59.49 b	0.01348 (r ² =0.9712) b
MIC-70% sombra	100.78 c	15.10 c	0.00618 (r ² =0.9681) c
MIC-50% sombra	27.18 d	4.17 d	0.00517 (r ² =0.9621) c

ABCPE= área bajo la curva del progreso de la enfermedad. Y_f= Incidencia acumulada final, b⁻¹= tasa de infección aparente de la enfermedad. ^z/Medias seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, 0.05%).

Se encontraron diferencias significativas entre regímenes de sombra en cada uno de los parámetros evaluados: ABCPE (P=0.0076), b⁻¹ (P=0.0100) y Y_f (P=0.0071) (Cuadro 3, Figura 2); observándose que las parcelas con 50% de sombra, independientemente del manejo agronómico, MT o MIC, presentaron los valores menores en ABCPE, b⁻¹ y Y_f (Cuadro 4), lo cual coincidió con Fowler *et al.* (1956) y Díaz (1957).

Cuadro 4. Efecto de la sombra sobre los parámetros del progreso temporal de epidemias de moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (*Theobroma cacao*) en Tabasco, México.

PARÁMETROS EPIDEMIOLOGICOS			
SOMBRA	Evaluación 1		
	ABCPE^z Absoluta	Y_f^z	b^{-1z}
70%	338.96 a	48.3 a	0.00537(r ² =0.9898) a
50%	207.28 b	30.0 b	0.00400(r ² =0.9770) b
Evaluación 2			
70%	311.53 a	45.0 a	0.01106(r ² =0.9795) a
50%	221.16 b	31.8 b	0.00933(r ² =0.9666) b

ABCPE= área bajo la curva del progreso de la enfermedad. Y_f= Incidencia final, b⁻¹= tasa de infección aparente de la enfermedad. ^z/Medias seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, 0.05%).

La incidencia de la enfermedad se redujo en 68.64% en el tratamiento MIC con 50% de sombra en la primer evaluación y en 70.77% en la segunda, con respecto al MT-70% de sombra. Así también en el MIC-50% el inicio de la epidemia se retrasó por 28 días con respecto al MT-70%, en la primera y segunda evaluación (Figura 2). Lo anterior muestra la consistencia del efecto positivo del MIC en reducir la incidencia y en retrasar el inicio de la epidemia, en ambas evaluaciones. El MIC-50% de sombra representó una efectividad de protección del 90% en comparación con la incidencia total absoluta observada en el MT-70% de sombra (Cuadro 3), y la sombra, independientemente del manejo, contribuyó a reducir la incidencia de la MC en un 20%, por lo que el 70% de efectividad es atribuible al MIC (Cuadro 4). Estos resultados confirman la bondad del enfoque del Manejo Integrado de Cultivo comparado con la aplicación de medidas aisladas seguidas por Bateman *et al.*, 2005; Krauss *et al.*, 2003 y Krauss y Soberanis, 2002. Los resultados sugieren la conveniencia de aplicar el MIC a cada una de las tres etapas fenológicas reproductivas para mejorar su

eficiencia. Estos resultados difieren con otros trabajos que se basan en la evaluación epidémica anual sin un análisis específico de cada uno de los periodos de producción que determinan la rentabilidad del cultivo (Bateman *et al.*, 2005; Krauss y Soberanis, 2002).

Naturaleza y ajuste parcial de la enfermedad

La moniliasis del cacao presentó una epidemia continua durante 11 meses en la que se observó una sucesión de curvas determinada por las variaciones en los ritmos de amarre de frutos (Figura 3). La forma de la curva fue descrita por el modelo logístico ($r^2= 0.94$).

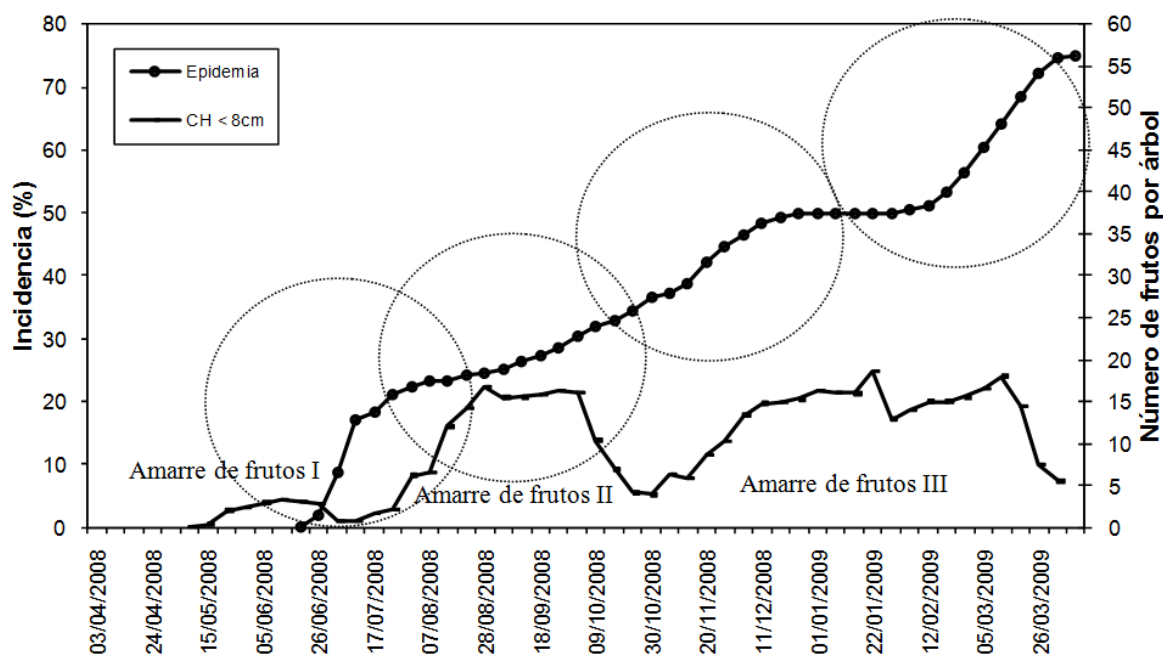


Figura 3. Curva del progreso temporal promedio de la epidemia de moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (*Theobroma cacao*) y ciclos de infección en una parcela con manejo tradicional en Tabasco, México, durante un año de producción (2008-2009).

El proceso fenológico de amarre de frutos fue un proceso continuo durante 11 meses; sin embargo se observaron tres flujos importantes durante este proceso (Figura 3). Las variaciones en los ritmos de amarre de frutos mostraron efecto en los cambios de intensidad de la epidemia lo cual demuestra el efecto condicionante de la fenología sobre la intensidad de la epidemia. Algunas enfermedades de órganos aéreos no dependen del desarrollo de la planta (Huissman, 1982); en otras, algunos estados fenológicos específicos influyen en el progreso y la intensidad de la enfermedad (Ávila-Quezada, 2002; Mora-Aguilera *et al.* 2003); por lo que el reconocimiento de la fenología en el estudio de epidemias es de relevante importancia.

El periodo de incubación de la moniliasis ocurrió en 38 días (desde la penetración hasta la aparición de manchas necróticas) y la formación de esporas secundarias ocurrió de 3 a 8 días después de la aparición de la lesión, lo cual sugiere un periodo de latencia de 46 días a partir de la penetración. El tiempo de producción y viabilidad de las esporas secundarias para causar infecciones secundarias (periodo infeccioso) para el caso de la moniliasis, es considerablemente prolongado (hasta siete meses en frutos momificados que quedan en el árbol) (Phillips-Mora, 2003; Evans, 1981), por lo que el inóculo producido en cada uno de los periodos de producción se conserva para los periodos próximos. Los conidios en el aire se presentaron todo el año por lo que hay inóculo aún sin la presencia de tejido susceptible. Lo anterior permitió inferir al menos cuatro ciclos de infección durante un año productivo (Figura 3) por lo que la moniliasis del cacao se define como una enfermedad policíclica condicionada por la fenología reproductiva (Figura 4).

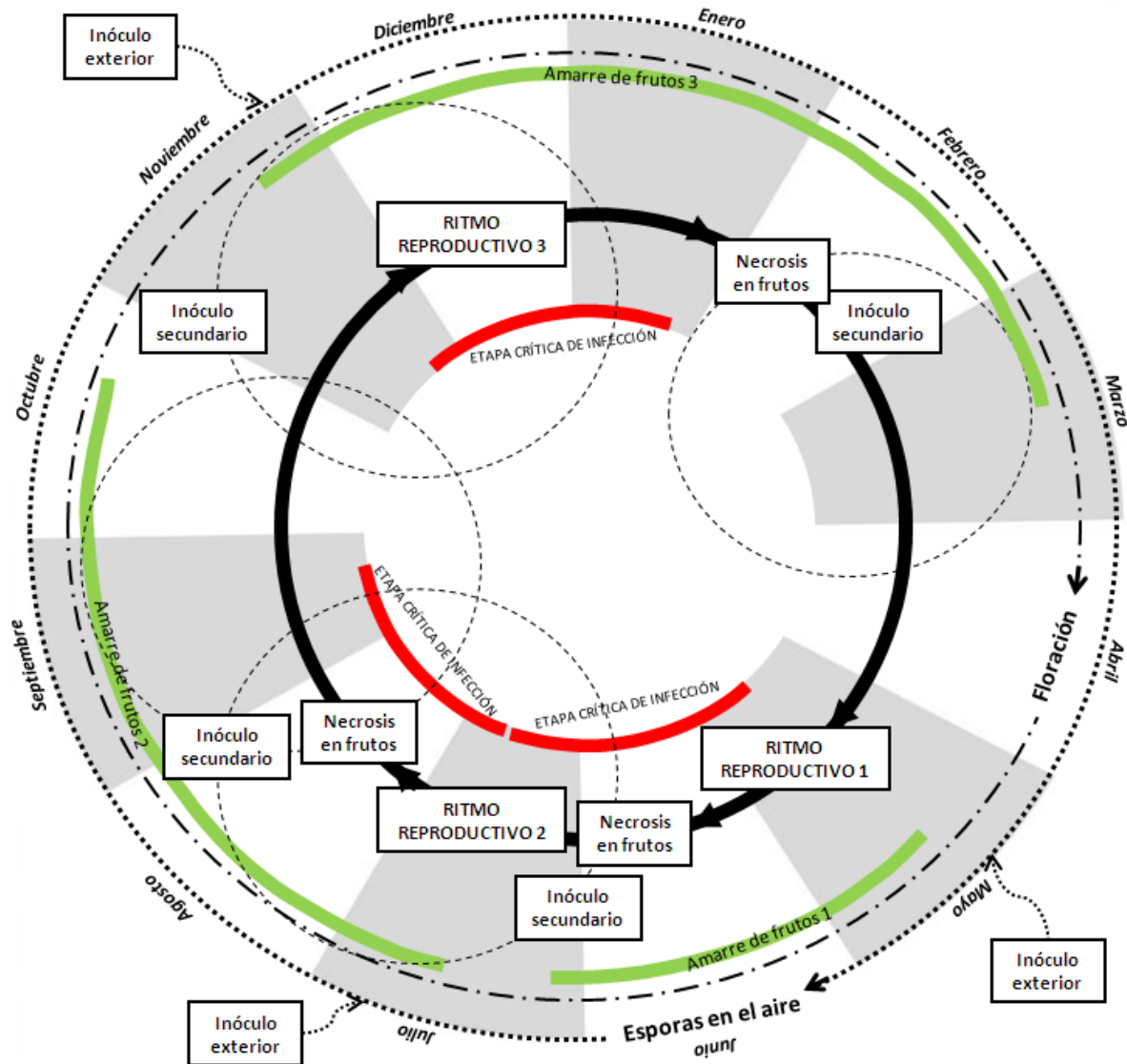


Figura 4. Ciclo de la enfermedad moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (*Theobroma cacao*) en Tabasco, México. 2008. Ritmo reproductivo = flujo de amarre de frutos.

El carácter policíclico (n -ciclos de infección) de la moniliasis se ve implicado en la forma de la curva epidémica, la cual a su vez, es determinada por la influencia de la fenología en el desarrollo y progreso de la enfermedad. La influencia de la fenología en un proceso epidémico es dinámica, lo cual se debe a que la fenología es un proceso dependiente del manejo, clima y de los ciclos alternantes productivos del cultivo (Mora-aguilera, G., comunicación personal). Si uno de los factores condicionantes principales es la fenología y esta a su vez es dependiente

del manejo y el clima, entonces el manejo agronómico y sanitario, así como la modificación del microclima de la plantación de cacao permite modificar la intensidad y forma de la curva epidémica. Al respecto, en epidemias de “malformación del mango”, en dos años consecutivos las epidemias tuvieron distinta intensidad y formas de curvas incluso dentro del mismo año, lo cual fue atribuido al vigor de la planta, y al manejo agronómico y sanitario (Noriega *et al.*, 1999).

La sucesión de curvas que se observa en la epidemia de la moniliasis del cacao y que están determinadas por la intensidad de floración y amarre que se presentan en la misma etapa reproductiva (fenológica) continua, representan relevante importancia como explicación biológica para un ajuste parcial de la curva en periodos de tiempos correspondientes a cada ritmo dentro de la misma etapa fenológica. Bajo este enfoque una evaluación parcial de la epidemia de la moniliasis del cacao permitió obtener tres curvas de epidemias en concordancia con igual número de ritmos de amarre de frutos durante el proceso fenológico (Figura 5).

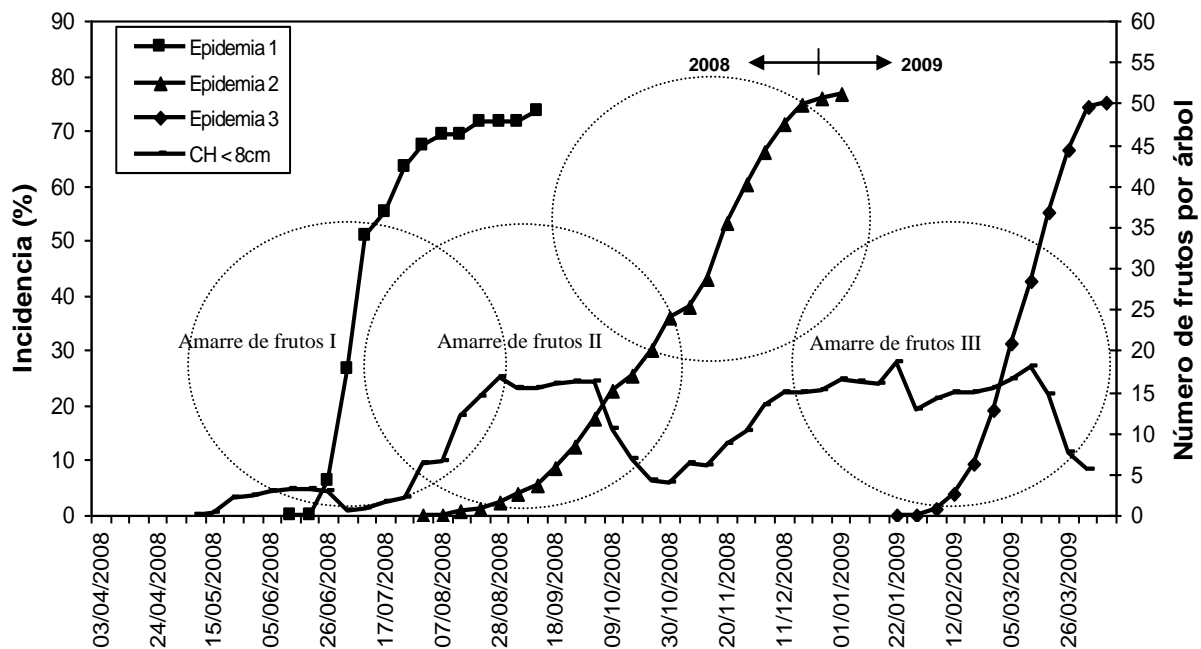


Figura 5. Curvas del progreso temporal de subepidemias de moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (*Theobroma cacao*) y ciclos de infección en una parcela con manejo tradicional en Tabasco, México, durante un año de producción. CH = Chilillos (frutos jóvenes). (2008-2009).

La forma de la curva de la epidemia uno fue descrita por el modelo monomolecular ($r^2= 0.99$). La epidemia dos y tres fueron descritas por el modelo logístico ($r^2= 0.99$ y 0.99 , respectivamente). Las epidemias mostraron una duración de 84, 154 y 70 días respectivamente. Tomando en cuenta el periodo de incubación, el periodo de latencia, el periodo infeccioso y la duración de cada epidemia; la epidemia uno permitió inferir un solo ciclo de la enfermedad, lo cual fue confirmado por el modelo monomolecular que describió la forma de la curva. El carácter monomolecular de la epidemia puede estar condicionado por el tamaño de la población y porque en este periodo la producción es baja. La epidemia dos permite inferir dos ciclos y es también confirmado por el modelo logístico respectivo. La epidemia tres fue la de menor duración y tuvo un solo ciclo de la enfermedad, aun cuando la forma de la curva fue logística, característica de epidemias policíclicas. La duración de etapas fenológicas condiciona la duración del periodo de incubación (Mora-Aguilera, G., comunicación personal); en este caso, la reducción del periodo de maduración del fruto a cuatro meses en la tercer epidemia probablemente acortó el periodo de incubación, y duplicó la tasa de incremento de la epidemia ($b^{-1}=0.01594$, $r^2 =0.99$) con respecto a la epidemia dos ($b^{-1}= 0.00786$, $r^2 =0.99$). También pudo influir el hecho de que la epidemia progresa a través de infecciones continuas causadas por inóculo externo y no por inóculo producido dentro de la misma población. El efecto del inóculo externo es un factor que debe ser tomado en cuenta ya que también aplica para las otras epidemias.

El estudio de la epidemia ajustada parcialmente a los ritmos fenológicos de amarre de frutos permitió obtener tres subepidemias, mismas que estudiadas de forma independiente poseen todas las características de una epidemia. Las epidemias presentaron formas de curvas diferentes (monomolecular y sigmoideal) lo cual es de relevante importancia para la toma de decisiones al diseñar un programa de manejo. Este estudio presenta un nuevo enfoque de una epidemia anual influida por la fenología y su manejo en tres subetapas reproductivas para mejorar el entendimiento de la enfermedad y la eficiencia de su control. Estos resultados difieren con otros trabajos que se basan en la evaluación epidémica anual sin un análisis biológico y sanitario específico de cada uno de los periodos de producción (Bateman *et al.*, 2005; Krauss y Soberanis, 2002).

LITERATURA CITADA

- Ampuero, C.E. 1967. Monilia pod rot of cocoa. Cocoa Growers' Bulletin 9:15-18.
- Ávila-Quezada, G. 2002. Distribución espacio-temporal de la roña, antracnosis y daño por trips en aguacate (*Persea americana*) en Michoacán, México. Tesis de Doctora en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Edo. de México, México. 109 p.
- 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.
- 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.
- Campbell, C.L., and Madden, L.V. 1990. Introduction to Plant Disease Epidemiology. John Wiley and Sons Inc., New York. 532 p.
- Desrosiers, R., and Suarez, C. 1974. Monilia Pod Rot of Cacao. pp. 273-277. In: Gregory P.H. (ed.) Phytophthora Disease of Cocoa., Logman Group, London.
- Díaz, J. 1957. Observaciones sobre la incidencia de Monilia del cacao en Ecuador. Turrialba 7:95-99.
- Evans, H.C. 1981. Pod rot of cacao caused by *Moniliophthora (Monilia) roreri*. Phytopathological Papers 24:1-44.
- Fowler, R.L., Desrosiers, R., and Hopp, H. 1956. Evaluation of certain factors affecting the yield of cacao in Ecuador. Ecology 37:75-81.

- Galindo, J.J. 1984. Programa de cacao investiga moniliasis. Actividades en Turrialba CATIE 12:8-9.
- González, L. 1981. Efecto de las Fuentes de Inóculo Sobre las Posibilidades de Combate de la Moniliasis del Cacao. pp 228-229. In: Primeras jornadas de investigación. UCR. San José, Costa Rica.
- 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.
- 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.
- Huissman, O. J. 1982. Interrelations of root growth dynamics to epidemiology of root-invading fungi. *Annual Review Phytopathology* 20:303-327.
- Krauss, U., Soberanis, W. 2002. Effect of fertilization and biocontrol application frequency on cocoa pod diseases. *Biological control* 24:82-89.
- Krauss, U., ten Hoopen, M., Hidalgo, E., Martínez, A., Arroyo, C., García, J., Portugués, A., y Sánchez, V. 2003. Manejo integrado de la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (*Theobroma cacao*) en Talamanca, Costa Rica. *Agroforestería en las Américas* 10:52-58.
- Little, M.T., and Hills, J.F. 1998. *Métodos Estadísticos para la Investigación en la Agricultura*. 2da. ed. Ed. Trillas. México. 270 p.

- Meléndez, L., y Somarriba, E. 1999. Microambiente y cantidad de esporas de *Moniliophthora roreri* en el aire bajo tres sistemas de sombra leguminosa en cacao. *Agroforestería en las Américas*. 6:39-41.
- Merchán, V. 1981. Avances en la investigación de la moniliasis del cacao en Colombia. *El Cacaotero Colombiano* 16:26-41.
- 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.
- Mora, A.A., Vega, P.A., Téliz, O.D., González, M. y Javier, J. 1998. Enfermedades del mango. pp 18-44. En: GIIM (Grupo Interdisciplinario de Investigación en Mango). *El mango y su Manejo Integrado en Michoacán*. Daniel Téliz (ed.). Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, México.
- Mora, A.A., Téliz, O.D., Mora, A.G., Sánchez, G.P. Javier, M.J. 2003. Progreso temporal de escoba de bruja (*Fusarium oxysporum* y *F. subglutinans*) en huertos de mango (*Manguifera indica* L.) cv. Haden en Michoacán, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21:1-12.
- Noriega, C.D., Téliz, O.D., Mora, A.G., Rodríguez, A.J., Zavaleta, M.E., Otero, C.G., and Campbell, C.L. 1999. Epidemiology of mango malformation in Guerrero, Mexico, with traditional and integrated management. *Plant Disease* 83:223-228.
- OEIDRUS. 2008. Oficina Estatal de Información para el Desarrollo Rural Sustentable en el Estado de Tabasco. www.oeidrustab.gob.mx. Tabasco, México.
- Ortiz, G.C.F. 1996. Etude de la diversité génétique de populations de *Phytophthora* pathogène du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) et du cocotier (*Cocos nucifera* L.). Tesis Doctoral. Université Paul Sabatier-Centre de Fisiología Vegetal – CNRS. Toulouse, Francia. 85 p.

- Pennypeker, S.P., Knoble, H.D., Antle, C.D., and Madden, L.V. 1980. A flexible model for studying plant disease progression. *Phytopathology* 70:232-235.
- 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. 349 p.
- Phillips-Mora, W., Castillo, J., Krauss, U., Rodriguez, E., 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. 2006. First report of *Moniliophthora roreri* causing frosty pod rot (moniliasis disease) of cocoa in Mexico. *Plant Pathology* 55:584.
- Porras, V.H. 1982. Epifitiología de la Moniliasis (*Monilia roreri*) del cacao y la relación con la producción del árbol en la zona de Matina. Tesis Ing. Agrónomo. UCR. San José, Costa Rica. 44 p.
- 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.
- SAS Institute Inc. 1988. SAS User's Guide: Statistics. Release 6.03 Ed. SAS Institute INC. Cary, NC. USA.
- Soberanis, W., Ríos, R., Arévalo, E., Zúñiga, L., Cabezas, O., and Krauss U. 1999. Increased frequency of phytosanitary pod removal in cacao (*Theobroma cacao*) increases yield economically in eastern Peru. *Crop Protection* 18:677-685.

Thal, W.M., Campbell, C.L., and Madden, L.V. 1984. Sensitivity of Weibull model parameters estimates to variation in simulated disease progression data. *Phytopathology* 74:1425-1430.

Yanes, G.M. 1994. *El cacao: Origen, Cultivo e Industrialización en Tabasco*. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Tabasco, México. 87 p.

CAPÍTULO V.

DISCUSIÓN GENERAL

La moniliasis del cacao (MC) es una de los limitantes más importantes del cultivo del cacao en América (Leach *et al.*, 2002). Su efecto es devastador y ha tenido un gran impacto social y económico en varios países. Con el reciente reporte de la entrada de la moniliasis en 2005 en México (Phillips-Mora *et al.*, 2006), la enfermedad alcanzó el límite norte del cacao en América. La aptitud patogénica y reproductiva de *M. royeri* y su excepcional capacidad para sobrevivir en diferentes ambientes, hacen de la moniliasis una fuerte amenaza para la producción de cacao en México. La cacaocultura en México dependerá de la eficiencia de las medidas integradas de control y de la habilidad de los productores para aplicarlas.

A cinco años del primer reporte de la MC en México, aún se desconoce el comportamiento de la enfermedad, y se carece de estrategias eficientes de manejo. Estos aspectos fueron considerados en el diseño de la presente investigación donde se estudió el desarrollo temporal de la enfermedad, se evaluó un fungicida sistémico y un programa de manejo integrado.

El presente estudio permitió definir tres epidemias durante 2008-2009 en concordancia con igual número de etapas fenológicas de amarre de frutos que se presentaron durante el año productivo. Este es el primer estudio que evalúa la moniliasis del cacao tomando en cuenta los ritmos de amarre de frutos de manera independiente. Otros trabajos se han basado en la evaluación anual de la epidemia, sin un análisis específico de cada uno de los periodos de producción (Bateman *et al.*, 2005; Krauss y Soberanis, 2002). La incidencia de la moniliasis en cada una de las epidemias fue superior al 70%, similar a las reportadas en Costa Rica (Hidalgo *et al.*, 2003) y Panamá (Somarriba y Beer, 1999). La destrucción del 75% de los frutos de cacao en el estado de Tabasco, confirmó la capacidad patogénica y devastadora de *M. royeri*.

La moniliasis del cacao ocurrió durante 11 meses consecutivos, lo cual indica que las condiciones favorables para la infección son continuas durante todo el año productivo en

Tabasco. Las epidemias se asociaron con temperatura fresca (20-26.9 °C) y humedad relativa mayor a 90 %, 49 días antes de la aparición de los síntomas, similar a lo reportado en Colombia (Merchán, 1981). Lo anterior sugiere que la moniliasis es dependiente de condiciones microambientales, particularmente aquellas que inducen altos niveles de humedad. Las epidemias también se relacionaron positivamente con la densidad de esporas de *M. roseri* en el aire 38 días antes de la muerte del fruto, lo cual confirmó el largo periodo de incubación de *M. roseri* reportado por Evans (1981) y Desrosiers y Suárez (1974). Los conidios en el aire ocurrieron durante todo el año, con mayor cantidad de esporas en la época seca (abril-mayo), asociados positivamente con temperatura alta (> 35 °C) y humedad relativa menor al 60 %, análogo a lo encontrado en Costa Rica por Meléndez y Somarriba (1999). De acuerdo con Porras (1982) y González (1981), temperaturas altas (> 35 °C) y humedad relativa baja (< 80%) favorecieron la dispersión de las esporas. En el presente estudio la separación de tres subepidemias y su asociación con variables ambientales y fenológicas derivó en las bases biológicas para manejar cada una de manera independiente, con acciones integradas que reducen la incidencia de la moniliasis en cada una de las etapas reproductivas.

La selección de fungicidas efectivos contra *M. roseri* permitiría incorporarlos en el manejo de la enfermedad (Murillo y González, 1984). En el presente estudio, el azoxystrobin inhibió *in vitro* la germinación de conidios y el crecimiento micelial, mostrando así la capacidad de restringir el potencial de *M. roseri* para infectar el tejido de la planta y causar la enfermedad. También mostró efecto curativo en campo, ya que se aplicó en frutos enfermos (≤ 2 meses de edad, en etapa temprana de infección) y el 55 % se recuperaron de la infección. Los frutos enfermos tratados que alcanzaron su madurez presentaron disminución en el número de semillas y fallas en el desarrollo de las mismas, semejante a lo observado por Evans (1981) en frutos infectados por *M. roseri* en etapa de *chillo*. Este es el primer reporte de la acción curativa de un fungicida sobre *M. roseri*.

De acuerdo con Reuveni y Sheglov (2002), el valor de cualquier compuesto químico como agente de control para enfermedades depende del modo de acción de la molécula en uno o más componentes fisiológicos del ciclo de vida del patógeno, entre otros factores. El azoxystrobin es un fungicida sistémico (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. Inhibe la respiración mitocondrial al bloquear la transferencia de electrones al complejo citocromo bc_1 (Brandt *et al.*, 1988; Anke, 1995). Esto puede explicar la efectiva acción de este fungicida sobre la germinación de conidios, el crecimiento micelial y en la supresión del avance de *M. royeri* dentro del fruto en etapa temprana de desarrollo (*chilillos*).

El control químico de la MC ha sido poco empleado por ser considerado antieconómico y con resultados erráticos (Desrosiers y Suárez, 1974; Suárez, 1982; González *et al.*, 1983). De acuerdo con Ríos-Ruiz (2004), el uso racional de fungicidas puede ser parte del manejo integrado de enfermedades. El efecto terapéutico del azoxystrobin mostrado sobre *M. royeri* en el presente estudio, lo señala para incorporarse en programas de manejo integrado de la enfermedad.

El manejo integrado evaluado con 50 % de sombra (MIC-50 % de sombra) presentó una efectividad de protección del 90% y retrasó por 28 días el inicio de la epidemia. Estos resultados confirmaron la bondad del enfoque del MIC (Téliz y Mora, 2007) comparado con la aplicación de medidas aisladas ensayadas por Bateman *et al.* (2005), Krauss *et al.* (2003), y Krauss y Soberanis (2002). Los resultados sugieren la conveniencia del manejo independiente de las tres epidemias con las siguientes medidas de control integrado: reducción de la sombra al 50% (árboles de sombra), poda de ramas laterales e internas y reducción de la altura del árbol de cacao a 4 m, eliminación total de frutos en periodo de baja producción (purga), una sola aplicación de azoxystrobin ($250 \text{ g.i.a.ha}^{-1}$) a frutos menores de dos meses de edad, y después, tres aspersiones mensuales con hidróxido de cobre ($1500 \text{ g.i.a.ha}^{-1}$); eliminación semanal de frutos enfermos, tratamiento de frutos eliminados y residuos de cosecha con urea al 15 %, control de maleza, y mejoramiento de drenaje. Estos resultados difieren con otros trabajos que se han basado en la evaluación anual de acciones agronómicas contra la moniliasis, sin un análisis específico de las condiciones sanitarias y fenológicas de cada uno de los periodos de producción (Bateman *et al.*, 2005; Krauss y Soberanis (2002)

El análisis de las epidemias en una sola curva mostró una epidemia continua durante 11 meses en la que se observó una sucesión de tres curvas determinada por las variaciones en ritmos de amarre de frutos. La forma de la curva anual fue descrita por el modelo logístico y la sucesión de curvas demuestra el efecto condicionante de la fenología sobre la epidemia. El periodo de incubación de la moniliasis ocurrió en 38 días (desde la penetración de la espora hasta la aparición de manchas necróticas) y la formación de esporas secundarias ocurrió de 3 a 8 días después de la aparición de la lesión, lo cual permite inferir el periodo de latencia en 46 días a partir de la penetración. El tiempo de producción y viabilidad de las esporas secundarias para causar infecciones secundarias (periodo infeccioso) para el caso de la moniliasis, es considerablemente largo (hasta siete meses en frutos momificados que quedan en el árbol) (Phillips-Mora, 2003; Evans, 1981), por lo que el inóculo producido en cada uno de los periodos de producción se conserva para las próximas épocas de producción. Los conidios en el aire se presentaron todo el año por lo que en el interior de las plantaciones se mantiene inóculo aún sin la presencia de tejido susceptible. Lo anterior permitió deducir al menos cuatro ciclos de infección durante un año productivo, definiéndose la moniliasis de cacao como una enfermedad policíclica condicionada por la fenología reproductiva.

La sucesión de curvas observada en la epidemia de la moniliasis del cacao, que están determinadas por los flujos de amarre en dicha etapa fenológica continua, representan relevante importancia como explicación biológica para un ajuste parcial de la curva en periodos de tiempos correspondientes a cada flujo dentro de la misma etapa fenológica. Este enfoque justifica la evaluación parcial de la epidemia de la moniliasis del cacao en tres subepidemias, en concordancia con igual número de ritmos de amarre de frutos.

Las tres subepidemias, estudiadas de forma independiente, poseen todas las características de una epidemia. Cada subepidemia presentó formas de curvas diferentes (monomolecular y sigmoidal) lo cual es de relevante importancia para la toma de decisiones al diseñar un programa de manejo. Este estudio presenta un nuevo enfoque de una epidemia anual influida por la fenología y su manejo en tres subetapas reproductivas para mejorar el entendimiento de la enfermedad y la eficiencia de su control.

CONCLUSIONES GENERALES

- Tres epidemias de la moniliasis se describieron durante el año de evaluación, en concordancia con tres ritmos de amarre de frutos. La incidencia final en cada una de las epidemias fue superior al 70%.
- Las epidemias se asociaron con temperaturas de 20 a 27 °C, humedad relativa mayor a 90%, 49 días antes de la aparición de los síntomas y con la densidad de esporas de *M. royeri* en el aire, 38 días antes de la muerte del fruto.
- Los conidios en el aire ocurrieron durante todo el año, con mayor cantidad de esporas en la época seca (abril-mayo), y asociados positivamente con temperatura mayor a 35°C y humedad relativa menor al 60%.
- El periodo de incubación de la moniliasis ocurrió en 38 días y el periodo de latencia en 46 días a partir de la penetración.
- La moniliasis del cacao se definió como una enfermedad policíclica condicionada por la fenología reproductiva.
- El azoxystrobin *in vitro* inhibió el desarrollo micelial y la germinación de *M. royeri*. *In vivo* permitió la recuperación del 55% de los frutos infectados en etapas tempranas de desarrollo.
- El MIC-50% de sombra presentó una efectividad de protección del 90%, y retardó en 28 días el inicio de la epidemia.
- La separación de la epidemia anual en tres subepidemias permitió manejar cada una de manera independiente, con acciones integradas que redujeron la incidencia de la moniliasis en cada una de las etapas reproductivas.

LITERATURA CITADA

- Anke, T. 1995. The antifungal strobilurins and their possible ecological role. *Canadian Journal of Botany* 73:940-945.
- 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.
- 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.
- Clough, J.M., and Godfrey, C.R.A. 1996. Azoxystrobin: A novel broad-spectrum systemic fungicide. *Pesticide Outlook* 7:16-20.
- 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.
- Evans, H.C. 1981. Pod rot of cacao caused by *Moniliophthora (Monilia) roreri*. *Phytopathological Papers* 24:1-44.
- Krauss, U., and Soberanis, W. 2002. Effect of fertilization and biocontrol application frequency on cocoa pod diseases. *Biological Control* 24:82-89.
- Krauss, U., ten Hoopen, M., Hidalgo, E., Martínez, A., Arroyo, C., García, J., Portugués, A., y Sánchez, V., 2003. Manejo integrado de la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (*Theobroma cacao*) en Talamanca, Costa Rica. *Agroforestería en las Américas* 10:52-58.

- González, L. 1981. Efecto de las fuentes de inóculo, sobre las posibilidades de combate de la moniliasis del cacao. pp 228-229. In: Primeras jornadas de investigación. UCR. San José, Costa Rica.
- 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.
- 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.
- Leach, A.W., Mumford, J.D., and Krauss, U. 2002. Modelling *Moniliophthora roreri* in Costa Rica. *Crop Protection* 21:317-326.
- Meléndez, L., y Somarriba, E. 1999. Microambiente y cantidad de esporas de *Moniliophthora roreri* en el aire bajo tres sistemas de sombra leguminosa en cacao. *Agroforestería en las Américas*. 6:39-41.
- Merchán, V. 1981. Avances en la investigación de la moniliasis del cacao en Colombia. *El Cacaotero Colombiano* 16:26-41.
- Phillips-Mora, W., Coutiño, A., Ortíz, C.F., López, A.P., Hernández, J., and Aime, M.C. 2006. First report of *Moniliophthora roreri* causing frosty pod rot (moniliasis disease) of cocoa in Mexico. *Plant Pathology* 55:584.
- Porras, V.H. 1982. Epifitiología de la Moniliasis (*Monilia roreri*) del cacao y la relación con la producción del árbol en la zona de Matina. Tesis Ing. Agrónomo. UCR. San José, Costa Rica. 44 p.

- Ríos-Ruiz, R.A. 2004. Epidemiologia e manejo da moniliase do cacauero no Peru. Tese de Doctor Scientiae. Universidade Federal de Vicosa. Programa de Pos-Graduacao em Fitopatología. Brasil. 80 p.
- Rorer, J. B. 1926. Ecuador cacao (Part 1). Tropical agriculture (Trinidad) 3:46-47.
- Somarriba, E., y Beer, J. 1999. Sistemas agroforestales con cacao en Costa Rica y Panamá. Agroforestería en las Américas 6:7-11.
- Suárez, C. C. 1982. El Problema de la Moniliasis y su Combate en el Ecuador. pp. 70-78. In Enriquez, G. A. Ed. La Moniliasis de Cacao. CATIE Serie Técnica. Costa Rica.
- Téliz, O.D. y Mora-Aguilera, A. 2007. El Manejo Integrado del Aguacate. pag. 287-306. En: D. Téliz y A. Mora. El Aguacate y su Manejo Integrado. 2da. ed. Ed. Mundi Prensa, México. 321 p.
- Thomson, W.T. 1997. Agricultural Chemicals. Book IV: Fungicides. 12th edition. Thomson Publications, Fresno, CA.