



**CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL  
DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**Efecto de los factores macro y microclimáticas y las características  
productivas del cacao sobre la epidemiología de la moniliasis**

por

**Mariela Eugenia Leandro Muñoz**

Tesis sometida a consideración de la Escuela de Posgrado  
como requisito para optar por el grado de

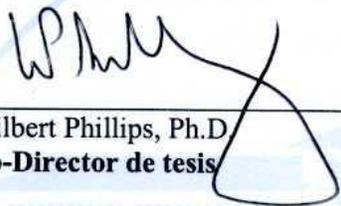
*Magister Scientiae* en Agricultura Ecológica

Turrialba, Costa Rica, 2011

Esta tesis ha sido aceptada en su presente forma por la División de Educación y la Escuela de Posgrado del CATIE y aprobada por el Comité Consejero del Estudiante como requisito parcial para optar por el grado de:

**MAGISTER SCIENTIAE EN AGRICULTURA ECOLÓGICA**

**FIRMANTES:**



Wilbert Phillips, Ph.D.  
Co-Director de tesis



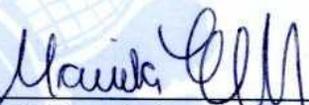
Jacques Avelino, Ph.D.  
Co-Director de tesis



Carlos Astorga, M.Sc.  
Miembro Comité Consejero



Glenn Galloway, Ph.D.  
Decano de la Escuela de Posgrado



Mariela Eugenia Leandro Muñoz  
Candidata

## **DEDICATORIA**

A **Nuestro Padre Celestial y a Su Hijo Jesucristo** por todas las bendiciones que derramaron sobre mi cabeza durante todo este tiempo, por la salud y sobre todo por las oportunidades que me obsequiaron.

A mis amados padres José Joaquín Leandro Machado e Ileana Muñoz Eduarte por su apoyo incondicional, por su amor, comprensión y sacrificio desinteresado. Gracias a ustedes estoy aquí, y sin ustedes ninguno de mis triunfos tendrían sentido. Los amo con todo mi corazón.

A mis hermanos Ileana y Joaquín por su amor y confianza. Por sus enseñanzas y por todos los momentos que vivimos juntos; definitivamente ustedes son parte de quien soy. Siempre los llevo en mi corazón.

A Alexis Mora Molina por su amor, su compañía, su ayuda desinteresada, su comprensión; por enseñarme que el amor todo lo puede. Gracias infinitas por darme tanta felicidad.

A mi ahijadita Mariana Núñez Jiménez por sus sonrisas de aliento y por su amor puro e incondicional. Gracias por existir pequeña y llenarme el corazón de alegría.

A toda mi familia, a mis amigos, hermanos de la Iglesia, compañeros de maestría y de trabajo, por estar ahí siempre que los necesité.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) por permitirme crecer profesionalmente y abrirme tantas oportunidades.

Al Centro para la Cooperación Internacional en Investigación Agrícola para el Desarrollo (CIRAD) por su apoyo científico y el préstamo de equipos.

Al Programa de Mejoramiento Genético de Cacao del CATIE por formarme como profesional y permitirme conocer y enamorarme de este cultivo tan importante para nuestra cultura. En especial quiero agradecerle al líder de este proyecto y mi co-director de tesis al Dr. Wilbert Phillips Mora por ser mi mentor, por preocuparse por mi formación, por ser un gran profesor, jefe y sobre todo amigo. Gracias por su confianza y por todas las oportunidades que me ha dado para crecer.

A mi co-director de tesis el Dr. Jacques Avelino por todas sus enseñanzas, por su paciencia, su devoción al trabajo y por su dedicación y compromiso con esta investigación. Además quiero agradecerle por su confianza y por abrirme un gran camino de oportunidades. Gracias por creer en mí y brindarme su apoyo científico y su amistad.

Al profesor M.Sc. Carlos Astorga Domian por formar parte de mi Comité Asesor, por sus consejos, conocimientos e ideas. También por su tiempo y apoyo.

A José Castillo Fernández, Maribelle Garro Garro, al personal de La Lola y todas las personas que colaboraron con mi trabajo de campo, especialmente a mi querido padre.

A todos los profesores encargados de mi formación académica, tanto del CATIE como del ITCR, en especial a la profesora M.Sc. Vilma Jiménez Bonilla por siempre estar presente en cada uno de mis pasos.

A la promoción CATIE 2009-2010, por todos los momentos compartidos, por su amistad y apoyo en los momentos difíciles. Siempre estarán en mi corazón. Les deseo una vida llena de éxitos y amor.

Al personal administrativo del CATIE por todo el apoyo y la confianza, gracias por facilitar mi caótica vida de estudiante.

Por último, quiero agradecer a todas las personas que depositaron su confianza en mí y me dieron la oportunidad de iniciar y concluir mis estudios de maestría.

## **BIOGRAFÍA**

La autora nació en Turrialba, Cartago, Costa Rica el día 22 de julio de 1985. En el año 2007 se graduó como Ingeniera en Biotecnología en el Instituto Tecnológico de Costa Rica.

En el año 2006 llega al CATIE como pasante e inicia su investigación en moniliasis para completar los requisitos de su tesis de pre-grado. A partir del año 2007 se incorpora al Programa de Mejoramiento Genético de Cacao del CATIE como encargada del Área de Fitopatología.

En el año 2009 inicia sus estudios de maestría en Agricultura Ecológica en el CATIE.

# CONTENIDO

DEDICATORIA .....	I
AGRADECIMIENTOS .....	II
BIOGRAFÍA.....	IV
CONTENIDO .....	V
RESUMEN .....	VIII
SUMMARY.....	XI
ÍNDICE DE CUADROS .....	XIII
ÍNDICE DE FIGURAS .....	XV
1 INTRODUCCIÓN .....	1
1.1 Objetivos del estudio .....	3
1.1.1 <i>Objetivo general</i> .....	3
1.1.2 <i>Objetivos específicos</i> .....	3
1.2 Hipótesis del estudio.....	3
2 MARCO CONCEPTUAL .....	4
2.1 El cultivo del cacao.....	4
2.2 Nombre del hongo y la enfermedad que produce .....	5
2.3 Rango de ataque.....	6
2.4 Importancia económica de la enfermedad .....	6
2.5 Características del hongo .....	7
2.6 Desarrollo de la enfermedad .....	7
2.7 Fuentes y mecanismos de dispersión de <i>M. royeri</i> .....	8
2.8 Condiciones físicas que favorecen el desarrollo del patógeno .....	9
2.9 Epidemiología.....	11
2.10 Epidemiología de la moniliasis.....	12
3 MATERIALES Y MÉTODOS .....	14
3.1 Descripción del área de estudio .....	14
3.1.1 <i>Descripción general de los ensayos</i> .....	14
3.2 Análisis de datos históricos.....	15
3.3 Medición de variables microclimáticas .....	16
3.3.1 <i>Distribución de los sensores en cada parcela</i> .....	17
3.3.2 <i>Comparación de las estaciones de las parcelas de sol y sombra</i> .....	19

3.4	Captura de esporas mediante trampa Burkard .....	20
3.4.1	<i>Conteo de esporas en el laboratorio</i> .....	22
3.4.1.1	Análisis de los conteos de esporas .....	22
3.5	Evaluación de síntomas a través del tiempo .....	23
3.5.1	<i>Marcaje de frutos para cada generación</i> .....	23
3.5.2	<i>Observación de los síntomas</i> .....	24
3.5.2.1	Análisis del efecto de las generaciones de frutos y la sintomatología	25
3.6	Medición de la sombra.....	25
3.6.1	<i>Análisis del efecto de la sombra sobre la incidencia de la enfermedad</i> .....	26
3.7	Cálculo de las tasas de crecimiento aparente de las curvas.....	27
3.7.1	<i>Análisis del efecto del microclima de los primeros días del ensayo sobre las tasas de crecimiento</i> .....	27
4	RESULTADOS .....	28
4.1	Análisis de datos históricos.....	28
4.2	Avance de los síntomas por generación.....	35
4.2.1	<i>Distribución de cada síntoma a través del tiempo por generación</i> .....	38
4.3	Progreso de la enfermedad por generación.....	41
4.3.1	<i>Efecto de la sombra</i> .....	45
4.4	Tasas de crecimiento aparente en las curvas .....	46
4.4.1	<i>Unificación de las cuatro curvas de cada generación</i> .....	49
4.5	Relación entre las tasas de crecimiento y el microclima .....	52
4.5.1	<i>Caracterización del microclima de los primeros 21 días de cada generación de frutos</i> 54	
4.5.1.1	Temperatura del aire promedio de los primeros 21 días de infección por generación	54
4.5.1.2	Temperatura del fruto promedio de los primeros 21 días de infección por generación	56
4.5.1.3	Mojadura del fruto promedio de los primeros 21 días de infección por generación	57
4.5.1.4	Humedad relativa promedio de los primeros 21 días de infección por generación	59

4.5.2	<i>Caracterización del microclima de las parcelas de sol y sombra bajo tres condiciones de lluvia (sin lluvia, &lt;5 mm, &gt;5 mm)</i> .....	61
4.5.2.1	Temperatura del aire en las parcelas de sol y sombra durante el período de agosto a setiembre del 2010.....	61
4.5.2.2	Temperatura del fruto de cacao en las parcelas de sol y sombra durante el período de agosto a setiembre del 2010.....	63
4.5.2.3	Frecuencia de la mojadura del fruto de cacao en las parcelas de sol y sombra durante el período de agosto a setiembre del 2010.....	65
4.5.2.4	Humedad relativa en las parcelas de sol y sombra durante el período de agosto a setiembre del 2010.....	67
4.6	Captura de esporas mediante trampa Burkard.....	69
5	DISCUSIÓN.....	73
5.1	La moniliasis: una enfermedad monocíclica.....	73
5.1.1	<i>Factores que afectan el monociclo y la pseudo epidemia</i> .....	73
5.1.1.1	Material genético.....	74
5.1.1.2	Carga fructífera.....	74
5.1.1.3	Temperatura del aire y del fruto.....	74
5.1.1.4	Sombra.....	75
5.1.1.5	Factores que afectan la dispersión de esporas.....	76
5.2	Desarrollo sintomatológico.....	77
6	CONCLUSIONES.....	79
7	RECOMENDACIONES.....	80
8	BIBLIOGRAFÍA.....	81

## RESUMEN

Las enfermedades del cacao, especialmente la moniliasis, producida por el hongo *Moniliophthora roreri* (Cif.) Evans *et al* (Basidiomicete, Marasmiaceae) son la principal limitante productiva en América Latina. Este patógeno es agresivo y se dispersa con facilidad, además, la mayoría de los genotipos comerciales de cacao de la región son susceptibles. La llegada de este patógeno al Caribe, Brasil, y sobre todo a África Occidental provocaría efectos devastadores, pues allí se concentra la mayor producción mundial de cacao.

El combate de la moniliasis es difícil debido a lo laboriosas que resultan las prácticas recomendadas. Por otra parte, existe gran desconocimiento del patógeno que hace indispensable estudiar más a fondo aspectos básicos como la epidemiología de la enfermedad y los factores climáticos y productivos que favorecen el desarrollo de la epidemia para lograr métodos de control más efectivos, sencillos y duraderos. En la presente investigación se estudió el efecto que la influencia que tienen los factores macro y microclimáticos como la precipitación, la temperatura y la humedad relativa, así como la producción del cacao sobre el inicio, desarrollo e impacto de la moniliasis del cacao en la Costa Atlántica de Costa Rica.

La investigación se dividió en dos partes. La primera consistió en un análisis de datos históricos fenológicos y climáticos recopilados durante 9 años por el Programa de Mejoramiento Genético del CATIE con el fin de generar, a partir de la información acumulada, árboles de regresión que jerarquizaran los predictores más relevantes de la incidencia de la moniliasis sobre los diferentes clones del experimento a través del tiempo. La segunda parte se basó en un ensayo de campo para estudiar el microclima del fruto (temperatura, humedad relativa y mojadura) y correlacionarlo con el desarrollo epidemiológico de la enfermedad. Se marcaron cuatro generaciones o grupos de mazorcas (de 1 ó 2 meses de edad), a las cuales se les dio seguimiento de su sintomatología. Al mismo tiempo se colocaron dos estaciones Campbell en condiciones contrastantes de sombra. También se colocó en el área experimental una trampa Burkard con el fin de cuantificar la cantidad de esporas en el aire a través del tiempo.

En la primera parte de la investigación se encontró que, para explicar la incidencia anual de la moniliasis las variables “clon”, “año”, “producción” y “temperatura” son en su

orden, las más importantes. La variable “clon” dividió al total de parcelas estudiadas en 7 grupos según el nivel de resistencia o susceptibilidad al patógeno. En el grupo altamente resistente se destacaron los clones CATIE-R2, CATIE-R4 y CATIE-R6, mientras que el grupo más susceptible aparecieron clones como el CATIE-1000, POUND-7, SCA-6 y SCA-12. La variable “año” señaló que en los años 3, 5 y 6 de este experimento hubo una menor cantidad de frutos enfermos. De acuerdo con la variable “producción”, a mayor producción de mazorcas, mayor incidencia de la enfermedad. Por último, las temperaturas promedio que se destacaron en este análisis fueron las de los meses enero, julio y agosto. En estos meses, temperaturas promedio mayores a 23,1°C; 25,2°C y 25°C respectivamente, incrementaron el número de mazorcas enfermas.

Del ensayo en campo se determinó que existe evidencia de que la moniliasis es una enfermedad monocíclica, es decir, que sólo hay un ciclo de enfermedad por generación de frutos. La ilusión de epidemia se da por la fructificación continua de los árboles de cacao durante todo el año, abasteciendo así al hongo de tejido susceptible en todo momento.

Con respecto al efecto de los factores microclimáticos se observó que la temperatura del aire y del fruto en los primeros 21 días de vida fueron las únicas variables microclimáticas que se relacionaron con las tasas de crecimiento de la enfermedad en las diferentes generaciones de frutos. El rango óptimo de temperatura para el desarrollo y la reproducción de *M. royeri* es de 24-28°C en condiciones *in vivo*. Además, se comprobó que la edad de los frutos y el microclima pueden variar el cuadro sintomatológico de la enfermedad a través del tiempo, acelerándolo y provocando que algunos síntomas no fueran detectados conforme aumentaron las temperaturas y se incrementaron la cantidad de frutos jóvenes susceptibles.

Las condiciones de sombra de las parcelas también afectaron el desarrollo de la moniliasis al afectar directamente al microclima de las mismas. La sombra favoreció el aumento en la incidencia de la enfermedad.

Por último, la mayor captura de esporas de *M. royeri* se dio en horas de la noche y la madrugada, obteniéndose un pico alrededor de las 22:00 horas. El tipo de esporas que más se capturó fueron las globosas, seguidas por las amorfas y por último las elípticas. Los días de mayor captura fueron los días secos, sin lluvia.

Con los resultados obtenidos con esta investigación se concluye que todas las prácticas tendientes a reducir el inóculo inicial, como la remoción de mazorcas enfermas a lo largo del

período productivo es una estrategia efectiva para el control de una enfermedad monocíclica como la moniliasis.

**Palabras clave:** *Theobroma cacao*, *Moniliophthora roreri*, curva de progreso de la enfermedad, generaciones, temperatura de la mazorca y árboles de regresión.

## SUMMARY

Cocoa, diseases, especially the frosty pod rot, produced by the fungus *Moniliophthora roreri* (Cif.) Evans *et al* (Basidiomycetes, Marasmiaceae) are the main limiting factor of production in Latin America. This pathogen is aggressive and easily dispersed. Also, most commercial genotypes of cacao in the region are susceptible. The arrival of this pathogen to the Caribbean, Brazil and West Africa (largest producer area) can cause devastating effects in the global cocoa production.

Combating moniliasis is difficult due to the time-consuming recommended practices. Moreover, there is currently insufficient information of the pathogen, thus it is essential to further study the basic aspects of the pathogen, the epidemiology of the disease and the climatic and production factors that affect the development of the epidemic, in order to achieve effective, simple and lasting control methods. The present investigation studied on the effect of macro and microclimatic factors such as precipitation, temperature and relative humidity as well as the production of cocoa on the initiation, development and impact of the moniliasis in the Atlantic Coast of Costa Rica.

The research was divided into two parts. The first was an analysis of historical data (yield, climatic and phenological data) collected over 9 years by CATIE's Cacao Breeding Program. The collection was utilized to generate regression trees from the accumulated data in order to rank the most relevant descriptors over the incidence of moniliasis in the different cacao clones over time. The second part was based on a field trial to study the microclimate (temperature, relative humidity and wetness) of each fruit and its correlation with the epidemiological development of the disease. While, two Campbell microclimate data loggers were placed on shade contrasting conditions. Also, a Burkard trap was also placed in the experimental area in order to quantify the amount of airborne spores present throughout the trial.

The first part of the research determined that the most important variables explaining the annual incidence of moniliasis are "clone", "tree", "production" and "temperature" respectively. The "clone" variable divided the total number of studied plots in 7 groups according to their level of resistance or susceptibility to the pathogen. In the highly resistant

clones group highlighted the CATIE-R2, CATIE-R4 and CATIE-R6, while in the highly susceptible clones group appeared the CATIE-1000, POUND-7, SCA-6 and SCA-12. The "year" variable indicated that in years 3, 5 and 6 of this experiment showed the lowest number of infected pods. According to the variable "production" higher pod production increased incidence of this disease. Finally, the highlighted average temperatures in this analysis were January, July and August temperatures. During these months, average temperatures above 23,1°C; 25,2°C and 25°C respectively, increased the number of infected pods.

Field trial determined that there is evidence that moniliasis is a monocyclic disease: only one disease cycle for one generation of pods. The illusion of an epidemic was given by the continuous fruiting on cacao trees throughout the year, providing susceptible tissue to the fungus at all times.

Regarding the effect of microclimatic factors within the investigation, air and fruit temperature at the first 21 days of its existence were the only variables affecting microclimatic growth rates of the disease in different generations of fruit. Furthermore, the optimum temperature range for the development and reproduction of *M. roreri* is 24-28°C *in vivo*. Also, it was discovered that the age of the fruit and the microclimate conditions may vary the symptomatic picture of disease over time, accelerating the progress and causing that some symptoms were not detected as the temperature and the number of susceptible young fruits increased.

Shade conditions of the plots also affect the incidence of this disease by directly affecting the microclimate of the plots. Shade increased the incidence of moniliasis.

Finally, the largest *M. roreri* spores captures occurred at night and early morning, resulting in a peak around 22:00 hours. The most capture spores type was the globose, followed by amorphous and finally the elliptical. More captures occurred in dry days (without rain).

With the results obtained upon completion of this investigation one may concluded that all practices aimed at reducing initial inoculum, as the removal of diseased pods throughout the productive period are effective strategies for a monocyclic disease control as moniliasis.

**Keywords:** *Theobroma cacao*, *Moniliophthora roreri*, disease progress curve, generations, pod temperature and regression trees.

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Fechas de inicio para cada generación de frutos.....	23
Cuadro 2. Diferencias entre curvas de generación en la ordenada al origen.....	42
Cuadro 3. Diferencias entre curvas de generación en el componente pendiente.....	43
Cuadro 4. Diferencias entre curvas de generación en el componente curvatura.....	44
Cuadro 5. Resumen de las diferencias estadísticas entre curvas de generación.....	44
Cuadro 6. Valor de p de la regresión lineal realizada entra la curva de la Generación 1 y la sombra.....	45
Cuadro 7. Coeficientes de regresión y estadísticos asociados.....	46
Cuadro 8. Valor de r <sup>2</sup> para el ajuste lineal de las tasas de crecimiento aparente por generación.....	49
Cuadro 9. Tasas de crecimiento de la enfermedad para cada generación de frutos.....	51
Cuadro 10. Valores de r y p de las regresiones lineales entre las tasas de crecimiento y los factores microclimáticos.....	53
Cuadro 11. Comparación de la temperatura del aire diaria y a las 12:00md (promedios y error estándar) durante los primeros 21 días de infección para cada generación de frutos.....	55
Cuadro 12. Comparación de la temperatura del fruto a las 12:00md (promedios y error estándar) durante los primeros 21 días de infección para cada generación de frutos.....	57
Cuadro 13. Comparación de la mojadura del fruto a las 12:00md (promedios y error estándar) durante los primeros 21 días de infección para cada generación de frutos.....	59
Cuadro 14. Comparación de la humedad relativa a las 12:00md (promedios y error estándar) durante los primeros 21 días de infección para cada generación de frutos.....	60
Cuadro 15. Comparación de la temperatura del aire a las 12:00md (promedios y error estándar) en el período de estudio bajo tres categorías de lluvia y dos condiciones de exposición solar.....	63
Cuadro 16. Comparación de la temperatura de la mazorca a las 12:00md (promedios y error estándar) en el período de estudio bajo tres categorías de lluvia y dos condiciones de exposición solar.....	65

Cuadro 17. Comparación de la frecuencia de la mojadura de la mazorca a las 12:00md (promedios y error estándar) en el período de estudio bajo tres categorías de lluvia y dos condiciones de exposición solar. ....	67
Cuadro 18. Comparación de la humedad relativa a las 12:00md (promedios y error estándar) en el período de estudio bajo tres categorías de lluvia y dos condiciones de exposición solar.....	69
Cuadro 19. Capturas de esporas por m3 de aire a través del día al final del período de estudio según su tipo. ....	71
Cuadro 20. Capturas de esporas por m3 de aire a través del día al final del período de estudio bajo tres categorías de lluvia.....	72

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de ubicación de las estaciones Campbell en las parcelas. ....	17
Figura 2. Estación Campbell junto a sensor de Humedad Relativa y Temperatura del aire.....	17
Figura 3. Instalación de los sensores de mojadura.....	18
Figura 5. Diagrama de ubicación de la trampa Burkard en las parcela expuesta al sol.....	20
Figura 6. Síntomas/signos externos de <i>M. royeri</i> .....	24
Figura 7. Determinación de los sectores de sombra. ....	26
Figura 9. Árbol de regresión para explicar el porcentaje de mazorcas enfermas por año, en función de variables ambientales y de producción (excluye la variable “clon”). .....	32
Figura 10. Árbol de regresión para explicar el porcentaje de mazorcas enfermas por año, en función de variables ambientales y de producción (excluye las variables “clon” y “árbol”). ...	34
Figura 11. Desarrollo de síntomas para las Generaciones 1 (a), 2 (b), 3 (c) y 4 (d).....	36
Figura 12. Desarrollo de las gibas en las cuatro generaciones de frutos. ....	38
Figura 13. Desarrollo de algunos síntomas en las cuatro generaciones de frutos. ....	40
Figura 14. Porcentaje de infección de frutos acumulados por fecha para cada generación. ....	42
Figura 15. Cálculo de la tasa de crecimiento aparente para la curva de la Generación 1.....	47
Figura 16. Cálculo de la tasa de crecimiento aparente para la curva de la Generación 2.....	47
Figura 17. Cálculo de la tasa de crecimiento aparente para la curva de la Generación 3.....	48
Figura 18. Cálculo de la tasa de crecimiento aparente para la curva de la Generación 4.....	48
Figura 19. Curva de sumatoria de las 4 generaciones.....	50
Figura 20 Cálculo de la tasa de crecimiento aparente para la curva sumatoria de las cuatro generaciones.....	51
Figura 21. Regresión lineal entre las tasas de crecimiento y la temperatura promedio de los primeros 7 días.....	52
Figura 22. Regresión lineal entre las tasas de crecimiento y la temperatura promedio de los primeros 21 días.....	53
Figura 23. Comportamiento de la temperatura del aire (2 sensores) por generación, durante los primeros 21 días de evaluación.....	55

Figura 24. Comportamiento de la temperatura del fruto (6 sensores) por generación, durante los primeros 21 días de evaluación.....	56
Figura 25. Comportamiento de la mojadura del fruto (4 sensores) por generación, durante los primeros 21 días de evaluación.....	58
Figura 26. Comportamiento de la humedad relativa (2 sensores) por generación, durante los primeros 21 días de evaluación.....	60
Figura 27. Comportamiento de la temperatura del aire (2 sensores) en días sin lluvia y con lluvias (<5mm y >5mm) en las parcelas de sol y sombra, durante el período de marzo a setiembre del 2010. ....	62
Figura 28. Comportamiento de la temperatura del fruto de cacao (6 sensores) en días sin lluvia y con lluvias (<5mm y >5mm) en las parcelas de sol y sombra, durante el período de marzo a setiembre del 2010. ....	64
Figura 29. Comportamiento de la frecuencia de la mojadura del fruto de cacao (4 sensores) en días sin lluvia y con lluvias (<5mm y >5mm) en las parcelas de sol y sombra, durante el período de marzo a setiembre del 2010. ....	66
Figura 30. Comportamiento de la humedad relativa (42 sensores) en días sin lluvia y con lluvias (<5mm y >5mm) en las parcelas de sol y sombra, durante el período de marzo a setiembre del 2010. ....	68
Figura 31. Comportamiento de las capturas de esporas totales de <i>M. roleri</i> a través del día....	70
Figura 32. Comportamiento de las capturas de esporas de <i>M. roleri</i> a través del día por tipo..	70
Figura 33. Comportamiento de las capturas de esporas (elípticas y globosas) de <i>M. roleri</i> a través del día. ....	71

# 1 INTRODUCCIÓN

El cacao es un cultivo de mucha importancia a nivel mundial, tanto en la industria alimentaria como en la cosmética. Para el año 2009 se produjeron aproximadamente 3,5 millones de toneladas de cacao a nivel mundial. En el año 2010, el precio promedio por tonelada de cacao fue de \$3132.99, precio que permite que la producción sea rentable, tomando en cuenta la creciente demanda del producto (ICCO 2009).

En África, aproximadamente 1200000 familias campesinas dependen del cultivo del cacao para sobrevivir. En Costa Rica, de acuerdo con datos del Ministerio de Agricultura y Ganadería (2010), 2229 familias poseen más de 4500 hectáreas de cacao como principal fuente de ingreso. La mayoría de estas familias son indígenas de las etnias Cabecar y Bribri ubicadas en la zona Atlántica del país, región considerada como una de las más pobres del país.

El nombre científico del cacao es *Theobroma cacao* L. Pertenece a la familia Malvaceae y es una de las 22 especies del género *Theobroma*. Su centro de origen se sitúa entre la cuenca del río Amazonas y el río Orinoco. Es un árbol perenne con una altura promedio de 5-6 metros y un follaje denso. Sus frutos son llamados mazorcas y usualmente se cosechan en dos picos principales de producción. Su vida productiva es de 25 a 30 años y se divide en 10 grupos genéticos: Amelonado, Contamana, Criollo, Curaray, Guiana, Iquitos, Maraón, Nacional, Nanay y Purús (Motamayor *et al* 2008).

A inicios del siglo XX en América Tropical se producía más del 50% del cacao a nivel mundial (aproximadamente 29400 toneladas), seguido por el Caribe, África, Asia y Oceanía. Sin embargo, las enfermedades han producido un declive en la producción cacaotera americana. Actualmente, en América se producen solamente el 14,4% de la producción mundial, que representa 522000 toneladas de cacao (ICCO, 2009). La moniliasis, es una de las enfermedades más importantes de la región y con su avance arrasó con muchas de plantaciones en los países donde se ha reportado (Enríquez 2004).

La moniliasis es causada por el hongo *Moniliophthora roreri* (Cif.) Evans *et al*, (Basidiomicete, Marasmiaceae). Su centro de origen se localiza en Colombia, y de ahí se ha diseminado a 11 países en América Tropical: Ecuador (antes considerado su lugar de origen), Venezuela, Panamá, Costa Rica, Nicaragua, Perú, Honduras, El Salvador, Guatemala, Belice y México (Phillips-Mora *et al* 2006).

La problemática alrededor de esta enfermedad radica en que su agente causal se encuentra en una fase invasiva muy intensa, y la mayoría de los genotipos comerciales de cacao establecidos en la región son susceptibles. La llegada de este patógeno a países como República Dominicana y Brasil, y sobre todo a otros continentes, en particular a África Occidental tendría efectos devastadores, pues allí está concentrada la mayor producción mundial de cacao (Phillips-Mora 2003).

Actualmente en Centroamérica existe un gran interés por reactivar la actividad cacaotera. CATIE, con proyectos como el Programa de Mejoramiento Genético de Cacao, es una de las instituciones involucradas en ese proceso, dando apoyo a los productores y ofreciéndoles alternativas productivas para enfrentar las limitaciones del cultivo en la zona. Las enfermedades, en especial la moniliasis, son la principal amenaza para el cacao de la región, y las alternativas actualmente propuestas para el control de esta enfermedad no han tenido éxito en su aplicación a nivel de campo, a veces por no ser accesibles para los pequeños productores que cultivan cacao, pero también por el desconocimiento que aún existe del patógeno. Con la llegada de la enfermedad a Centroamérica se realizaron algunos estudios para el combate efectivo de la enfermedad, sin embargo nunca se estudió a fondo la biología de *M. roreri*. La agresividad del patógeno y la rápida devastación de las fincas cacaoteras provocaron una inactividad del cultivo por casi 25 años, período en el cual la investigación en el tema fue casi nula (Phillips-Mora 2003). Es indispensable estudiar más a fondo aspectos básicos del patógeno, como la epidemiología de la enfermedad y los factores climáticos y productivos que favorecen el desarrollo de la epidemia para lograr métodos de control efectivos y duraderos. Con la presente investigación se pretende contribuir a llenar algunos de estos vacíos.

## **1.1 Objetivos del estudio**

### ***1.1.1 Objetivo general***

Estudiar la influencia que tienen los factores macro y microclimáticos como la precipitación, la temperatura y la humedad relativa, así como la producción del cacao sobre el inicio, desarrollo e impacto de la moniliasis del cacao en la Costa Atlántica de Costa Rica.

### ***1.1.2 Objetivos específicos***

a) Estudiar el efecto de la lluvia, temperatura, humedad relativa y la productividad del cacao sobre la incidencia anual de moniliasis usando datos históricos acumulados durante 9 años.

b) Estudiar el efecto de factores microclimáticos como humedad relativa, temperatura y mojadura del fruto sobre el inicio, desarrollo e impacto de la moniliasis durante un ciclo productivo.

c) Estudiar el efecto de cuatro ciclos de formación de frutos sobre el desarrollo de la enfermedad.

## **1.2 Hipótesis del estudio**

a) Los factores macroclimáticos (lluvia, temperatura y humedad relativa) y la producción afectan la incidencia anual de la enfermedad.

b) Los factores microclimáticos (humedad relativa, temperatura y mojadura del fruto) afectan el inicio, desarrollo, la dispersión, y el impacto de la moniliasis.

c) La productividad del cacao y las épocas de fructificación tienen un efecto en el desarrollo de la enfermedad.

## 2 MARCO CONCEPTUAL

### 2.1 El cultivo del cacao

El cacao, *Theobroma cacao* L es una especie altamente alógama ya que su porcentaje de polinización cruzada sobrepasa el 95% y sus polinizadores son altamente especializados, por lo que es importante conservar su hábitat. El cacao posee 20 cromosomas (Enríquez 1985). Sus semillas germinan de 10 a 15 días después de colocadas en los semilleros, sus cotiledones son exalbuminosos y epigeos, al igual que el hipocótilo y son de color verde en la parte exterior. Las primeras hojas verdaderas aparecen de 15 a 20 días después de la germinación (Hardy 1961).

Es la especie de *Theobroma* spp. más explotada a nivel mundial, género constituido por 22 especies. Pertenece a la familia Malvaceae y es oriundo del continente americano, siendo su centro de origen en la parte alta de la cuenca del río Amazonas. Su hábitat natural se describe como el estrato arbóreo inferior del bosque tropical siempre verde, donde está expuesto a una temperatura media anual elevada con poca oscilación, una precipitación anual abundante con un período de sequía corto y a una baja intensidad luminosa (Wood 1982). Otros factores típicos del hábitat original del cacao son: viento ligero o ausente, humedad alta y estable, pocos arvenses y una gruesa capa de mantillo (Hess 1990).

Según la historia universal, el cacao es utilizado desde épocas pre-hispánicas, siglos antes de la llegada de los españoles a América. La civilización maya lo llamaba “cacau” y representaba riqueza y poder, por lo que lo utilizaban como moneda en los trueques. Durante esta época, el cultivo se desarrolló en las costas del Golfo de México y el Pacífico, en las regiones calientes de los estados de Michoacán, Tabasco, Campeche, Chiapas, Colima y Yucatán; de ahí se trasladó hacia Centroamérica. Fueron los mayas quienes establecieron las primeras plantaciones de cacao en Centroamérica, buscando siempre las zonas más favorables para el óptimo desarrollo del cultivo, como terrenos libres de inundaciones y áreas levemente desmontadas. El cultivo fue muy valorado por los aztecas, ya que para ellos tenía un significado religioso. Lo consumían como una bebida llamada “Xocoatl”, cuyo nombre significa “bebida de los dioses” y era muy apetecida por el rey Moctezuma; también se

utilizaba para la curación de dolores estomacales y gripes. La bebida se preparaba con chile, maíz molido, vainilla, frijol e inclusive pétalos de rosa (López *et al* 2003).

Actualmente el cultivo de cacao se extiende desde el sur de México hasta Brasil y Bolivia, en América, aunque también se produce en el Caribe, África, Asia y Oceanía. A pesar de que su centro de origen es América, al presente África es el continente donde más se produce cacao; siendo Costa de Marfil y Ghana los países más productores. Al continente africano aún no ha arribado la monilia, sin embargo poseen otras enfermedades de gran importancia, como el virus del *Swollen Shoot* o la pudrición negra de la mazorca causada por *Phytophthora megakarya* (FAO 2004).

A inicios del siglo XX, América producía más del 50% del cacao a nivel mundial, seguido por el Caribe, África, Asia y Oceanía, sin embargo, como se mencionó anteriormente, las enfermedades se han encargado de declinar la producción cacaotera americana, primero con el mal del machete, *Ceratocystis cacaofunesta* que atacó la población de cacao criollo de la zona Pacífica, y posteriormente con la llegada de la escoba de bruja, *Moniliophthora perniciosa* y la moniliasis, *M. roreri* que arrasó con la mayoría de plantaciones en Centroamérica y ahora la parte sur de México (Enríquez 2004).

## **2.2 Nombre del hongo y la enfermedad que produce**

Este hongo fue primero denominado *Monilia roreri* por Ciferri & Parodi en 1933, pero en 1978 fue renombrado por Evans *et al* a *Moniliophthora roreri* debido a que presentaba caracteres morfológicos que lo hacen afín a los basidiomicetes. Existen muchos nombres comunes para la enfermedad que produce este patógeno, tales como: moniliasis o monilia, enfermedad de Quevedo, mancha ceniza, podredumbre acuosa, prinque y mal palúdico, cada una de acuerdo con la región en cuestión (Campuzano 1980, León 1976).

Su centro de origen y diversidad genética se localiza en Colombia. Se cree que de ahí se dispersó hasta Ecuador, Perú y algunas zonas de Venezuela. De ahí hasta Panamá, Centroamérica y por último a México. En 1978 la enfermedad fue reportada en Costa Rica

por Enríquez y Suárez, específicamente en la zona Atlántica, y para 1980 ya estaba distribuida por todo el territorio nacional (Phillips-Mora 2003).

### **2.3 Rango de ataque**

*M. roreri* es un patógeno altamente especializado que ataca solamente a los géneros *Theobroma* y *Herrania* (Whitlock y Baum 1999). De acuerdo con lo reportado por Evans (1981) este hongo ataca a las 22 especies del género *Theobroma* y a las 17 especies del género *Herrania*. El género *Theobroma* posee especies muy importantes industrialmente como *T. cacao*, siendo esta la más comercializada a nivel mundial, *T. bicolor* y *T. grandiflorum*, éste último muy utilizado en Brasil. Para estas tres especies la moniliasis representa una importante amenaza (Wood y Lass 1985).

### **2.4 Importancia económica de la enfermedad**

El consumo de cacao en grano para el año 2002 fue de 3 millones de toneladas, pero se ha ido incrementando en estos últimos 7 años. Las enfermedades del cultivo figuran como el principal responsable del decline en la producción, ya que provocan la pérdidas de 30-40% en las áreas cultivadas (Fortiz y Robles 2002).

Unas décadas atrás, en Costa Rica, el cacao fue un importante cultivo de exportación. En 1962 se exportaron 12.000 TM, pero en la década de los 80 la producción fluctuó entre 5.000 y 9.500 TM, y actualmente la producción no alcanza las 2.000 TM. En 1973 existían 20.213 ha sembradas de cacao, concentradas principalmente en la provincia de Limón, sin embargo, por causa de la moniliasis, en 1981 el 21% de los cacaoteros del país abandonaron el cultivo y 34,4% no pensaban seguir con esta actividad. En 1981, la producción disminuyó un 74% (Enríquez *et al* 1981). Desde entonces, la moniliasis causó el abandono de casi todas las plantaciones de cacao del país, afectando así a los pequeños y medianos productores y a los campesinos cuyo sostén económico básico era este cultivo.

Actualmente, la demanda del cultivo está creciendo a nivel mundial, debido, entre otras cosas, a las propiedades curativas y cosméticas que se le atribuye a esta especie, y es por esto que el control de la enfermedad causada por el hongo *M. royeri* es fundamental para la reactivación de la producción cacaotera en Costa Rica y otros países latinoamericanos.

## **2.5 Características del hongo**

Sus hifas son hialinas de pared delgada y septadas, aunque después se tornan café; su micelio vegetativo posee tabiques con doliporos. Las esporas se forman básicamente en cadenas simples o ramificadas cada una con 4-10 conidios envueltos en la pared celular original (Thévenin y Trocmé 1996, Ram 1989). Esta última característica hace a *M. royeri* afín a los basidiomicetes (Evans 1986). Las esporas son fácilmente removibles, de pared gruesa, color amarillo pálido cuando están inmaduros o café oscuro en su madurez, y pueden ser de forma globosa, elíptica o amorfa (Phillips-Mora 2003). Las características de estas estructuras varían un poco dependiendo de la cepa en cuestión.

*M. royeri* se considera un hongo hemibiótrofo, dado que su ciclo pasa por dos fases: una fase biotrófica, que va desde la germinación de las esporas hasta la invasión intercelular de la epidermis de las mazorcas; y una fase necrótica cuando el crecimiento de la mazorca disminuye y el hongo invade las células provocando la aparición de necrosis interna y externa (Thévenin y Trocmé 1996).

## **2.6 Desarrollo de la enfermedad**

Las mazorcas representan el único órgano susceptible al hongo (Desrosiers y Suárez 1974). La infección ocurre en las primeras etapas de crecimiento de los frutos, y conforme van creciendo, las mazorcas se vuelven más resistentes (Enríquez 2004). Una vez que el fruto es infectado por el hongo puede tardar de 40 a 60 días para manifestar los daños externos. Cuando el fruto es joven y las condiciones del tiempo son lluviosas o calurosas, este período se acorta. Esto se debe a que en las etapas iniciales de la infección, el hongo invade el interior

del fruto y posteriormente aparecen los síntomas externos, los cuales pueden aparecer hasta que la mazorca esté completamente desarrollada (Bejarano 1961).

Al abrir frutos infectados sin síntomas visibles, estos se encuentran podridos en mayor o menor grado y pesan más que los frutos sanos (Enríquez 2004). Si las mazorcas tienen menos de tres meses, el primer síntoma que se presenta es el desarrollo de una protuberancia, giba o hinchazón, pero el primer síntoma de la infección es la aparición de pequeños puntos amarillos en mazorcas verdes y anaranjados en mazorcas rojas. Después se puede presentar una mancha irregular de color marrón en la parte central que puede mostrar un halo amarillento. Este síntoma se conoce como mancha chocolate (Porras y Enríquez 1998). En cuanto a los signos del patógeno, estos aparecen bajo condiciones húmedas y calurosas. Sobre la mancha chocolate se empieza a desarrollar una felpa dura y blanca, la cual constituye el micelio del hongo, y sobre este micelio crecen una gran cantidad de esporóforos, formando una masa crema o marrón claro. Las mazorcas que permanecen adheridas a los árboles pueden esporular hasta por 9 meses y se van momificando (Enríquez 2004).

## **2.7 Fuentes y mecanismos de dispersión de *M. royeri***

Según Ampuero (1967) y Castaño (1952) las mazorcas momificadas que no son removidas de los árboles representan la mayor fuente de inóculo del hongo. Estas pueden provocar varias olas de infección y pueden tener una abundancia de esporas hasta de 44 millones por  $\text{cm}^2$ , lo que significa que una mazorca adulta infectada puede producir hasta 7000 millones de esporas (Campuzano 1981). Una vez liberadas, las esporas pueden mantenerse viables en el tronco, hojas, flores y cualquier otra parte del árbol de cacao o los árboles de sombra (Ram 1989), sin embargo González (1981) afirma que las esporas que caen al suelo no sobreviven más de tres meses, ya que los microorganismos del suelo las degradan.

El principal mecanismo de dispersión de las esporas de *M. royeri* es el viento, aunque Barros (1981) afirma que estas esporas no pueden viajar grandes distancias en el aire debido a su peso. Sin embargo autores como Naundorf (1954) señalan que la dispersión también puede ocurrir por el agua, insectos u otros animales, incluidos también los seres humanos, quienes

muchas veces no se percatan de que algunas mazorcas están enfermas aunque no muestren síntomas externos y las trasladan a lugares que no tenían la enfermedad (Evans 1986).

Según Porras y Enríquez (1998), aparte de los seres humanos, fuertes vientos y hasta huracanes pueden ser posibles agentes de diseminación a largas distancias.

Los insectos, aunque pueden trasladar estructuras infectivas de un lugar a otro, no son necesarios como vectores de la enfermedad ya que las hifas del hongo tienen la capacidad de atravesar la epidermis de las mazorcas (Suárez 1971).

## 2.8 Condiciones físicas que favorecen el desarrollo del patógeno

**Precipitación:** Épocas con alta precipitación se relacionan con períodos de alta incidencia de la enfermedad. Zonas con precipitación mayor a los 2500 mm y con humedades relativas mayores al 90% la incidencia puede alcanzar valores mayores al 95%. Sin embargo, existe probabilidad de que las lluvias torrenciales generen un efecto negativo sobre el desarrollo de la enfermedad (Castro 1989).

**Temperatura:** La temperatura es el factor de mayor influencia en la tasa de crecimiento de los hongos (Moore-Landecker 1996). Su incremento provoca el aumento de la actividad enzimática y química, por lo que se acelera la síntesis de vitaminas, aminoácidos y otros metabolitos; sin embargo, una temperatura excesiva puede inactivar dichas actividades y detener el crecimiento. Para *M. royeri*, el rango ideal para el crecimiento y esporulación de las colonias que crecen *in vitro* en medio de cultivo V8 es de 24 a 28°C (Herrera 1988). De acuerdo con Hawker (1950) el rango de temperatura óptimo para la esporulación de los hongos siempre es menor al rango de temperatura óptimo para el crecimiento de los mismos.

**Humedad relativa:** Se considera que una humedad relativa superior al 80% es óptima para el crecimiento del hongo (Castro 1989). Según Campuzano (1981), el mayor porcentaje de germinación *in vitro* se da a 22.5°C y a 96% de humedad. Sin embargo, para la dispersión de esporas de *M. royeri*, es necesario que la humedad relativa en ese momento sea baja para

que las estructuras puedan desprenderse de los frutos esporulados y sean transportadas por el viento u otro medio de diseminación. La mayor tasa de dispersión del hongo se da en horas cercanas al mediodía, cuando la temperatura sube y el aire desplaza la humedad.

**Agua libre:** Galindo (1985) indica que para su germinación y desarrollo del tubo germinativo, las esporas requieren de una película de agua sobre el fruto. Según los resultados de Phillips-Mora (1986) el éxito del uso de la cámara húmeda en las inoculaciones artificiales de *M. roreri* radica en que se asegura la presencia de una película de agua sobre la superficie de las mazorcas, en un período adecuado que permite la formación del tubo germinativo de las esporas y lograr así la penetración del patógeno.

**Luz:** La tasa de crecimiento y la formación de estructuras reproductivas son afectadas por la intensidad, duración y calidad de la luz. Este efecto estimulador se observa claramente en la formación de anillos alternos concéntricos o zonación que muestra *M. roreri* al exponerse a períodos alternos de luz y oscuridad, donde la luz favorece la formación de estructuras reproductivas (anillos pardo claros de crecimiento rastrero) y la oscuridad favorece al desarrollo vegetativo (anillos color crema, menos esporulados y de crecimiento más aéreo). A pesar de esto Phillips-Mora (2003) observó la formación de anillos concéntricos en cultivos mantenidos en total oscuridad.

Aunque este hongo es poco exigente en cuanto a la longitud de cada período, Herrera (1988) determinó que el régimen lumínico de 12 horas de luz y oscuridad permite alcanzar el punto máximo de esporulación de las colonias en V8.

Phillips-Mora (2003) recomienda un régimen lumínico de 12/12 períodos alternados de luz/oscuridad, con el fin de estimular el desarrollo de las hifas y estructuras vegetativas del hongo.

**pH:** Chacin (1975) señala que la germinación de las esporas de *M. roreri* ocurre entre un pH de 4 y 8, considerándose un pH de 6 como el óptimo. El mayor alargamiento del tubo germinal se da entre pH 5,5 y 6,5.

## 2.9 Epidemiología

De acuerdo con Griffiths (1978), la epidemiología encierra más que los ciclos de vida del patógeno. Estudia las enfermedades dentro de las poblaciones, en un contexto de poblaciones de patógenos interactuando con poblaciones de hospedantes en un ambiente variable. Está esencialmente relacionada con números y cantidades.

La esencia de la epidemiología es entender el desarrollo de una enfermedad en el tiempo y el espacio. El proceso epidemiológico es biológicamente muy complejo, pero está compuesto por subprocesos más sencillos denominados procesos monocíclicos. Estos son procesos recurrentes y se pueden repetir varias veces en el tiempo durante el período del cultivo. Resumiendo, una epidemia consiste en una secuencia de procesos monocíclicos que en conjunto conforman un proceso policíclico (Kushalappa y Eskes 1989).

Según Kushalappa y Eskes (1989), dentro de los procesos monocíclicos también se desarrollan una cantidad de subprocesos, estos desencadenan cambios morfológicos en el hongo y el hospedante o la conversión y el transporte de materia y energía. El proceso monocíclico inicia con una unidad de infección (una espora o conjunto de células); esta unidad se convierte en una estructura micelial que a su vez origina una unidad de dispersión. Las epidemias se inician a partir de una unidad de dispersión viable. Cada una de estas unidades y subprocesos pueden ser observados y cuantificados por clasificación, conteo y medición.

Estos autores señalan que en la epidemiología, los procesos monocíclicos (macroprocesos) se subdividen para lograr una mejor observación y entendimiento, en tres mesoprocesos: 1) esporulación, 2) diseminación, 3) infección. Cada uno de estos se divide también en varios microprocesos, que constituyen el crecimiento del hongo de una etapa a la siguiente; un ejemplo es la germinación, que va desde el estado de espora hasta el desarrollo del tubo germinativo.

Los procesos monocíclicos se pueden cuantificar mediante los siguientes parámetros: el radio de sobrevivencia, el período del proceso y la tasa. Este último consiste en la

velocidad de determinado proceso, son las unidades que completan el proceso por unidad de tiempo (Kushalappa y Eskes 1989).

De acuerdo con Tazelaar (1991), el ciclo de *M. roreri* se puede describir como un proceso policíclico homogéneo construido sistemáticamente, ya que sus ciclos de infección son idénticos.

## **2.10 Epidemiología de la moniliasis**

De acuerdo con Fallas (1983) existe una correlación positiva entre la incidencia de la enfermedad y la cantidad de lluvia caída dos y tres meses antes de la infección. Además existe una correlación positiva con los períodos de humedad relativa alta y la cantidad de horas de sol. El autor también señala que la dispersión de esporas de *M. roreri* depende de las condiciones de temperatura y humedad, por lo que la dispersión aumenta a mayor temperatura y a menor humedad relativa.

El exceso de sombra y la poca aireación generan las condiciones ambientales que favorecen la frecuencia e intensidad del ataque de la enfermedad. Sin embargo, se conoce que aquellas condiciones que favorecen la germinación y la penetración del hongo, son diferentes a las que favorecen la liberación y la diseminación del inóculo (Phillips-Mora 1986).

Schmitz (1985) señala que en la zona Atlántica de Costa Rica se determinó que la máxima cantidad de esporas en el aire se da entre las 10 y 15 horas.

Otro factor que afecta la incidencia de la moniliasis es la disponibilidad de tejido susceptible. Debe existir suficiente tejido hospedante susceptible, aparte de las condiciones ambientales favorables para que se dé la infección. Los frutos jóvenes de aproximadamente dos meses de edad son los más susceptibles a esta enfermedad (Porras 1982).

Rodríguez (1982) señala con respecto a la diseminación de esporas de *M. roreri* que estas se pueden desplazar hasta 30 metros en sentido de las corrientes de aire y 20 metros en

sentido contrario. Existen otros medios de transporte de esporas, como el agua, el material vegetal, animales, herramientas y los mismos seres humanos.

Las esporas del patógeno se desprenden de los frutos esporulados por corrientes de aire, agua o movimientos en el árbol. Estas esporas son inmediatamente desplazadas por las corrientes convexas de aire. Sin embargo, se libera una mayor cantidad de esporas durante la cosecha. Las gotas de lluvia también juegan un papel importante en la dispersión (Ram 1989). Este autor también señala que en 80 días pueden ocurrir hasta 20 períodos de esporulación sucesivos en una mazorca infectada.

## **3 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1 Descripción del área de estudio**

La presente investigación se realizó de marzo a setiembre del año 2010 en la Finca Experimental La Lola del CATIE, ubicada en el distrito Bataan, cantón Matina de la provincia de Limón. El sitio se encuentra a 40 m.s.n.m. a 10° 06´ Latitud Norte y 83° 23´ Longitud Oeste. Su precipitación promedio es de 3573 mm, la temperatura oscila entre los 30,1°C y los 20,5°C y posee una humedad relativa alrededor de un 63%. Estas condiciones son muy favorables para el desarrollo de la moniliasis, la cual puede superar el 80% de infección en algunos genotipos.

El estudio se llevó a cabo específicamente en el área experimental conocida como “Experimento L6” del Programa de Mejoramiento Genético de Cacao del CATIE, el cual fue sembrado con el objetivo de seleccionar clones superiores por su alta productividad, resistencia y otros atributos; estudiar el desempeño como clon de árboles individuales previamente seleccionados, e identificar materiales para ensayos regionales. Su área total es de 1,5 ha y fue sembrado entre julio de 1998 y 1999. Sigue un diseño experimental de bloques completos al azar, cuyos tratamientos son 42 clones seleccionados principalmente por su alta resistencia a enfermedades y/o productividad, y 4 clones de borde. Posee 4 repeticiones de 8 plantas cada una y su distancia de siembra es de 3 x 3m. La sombra en este ensayo está distribuida irregularmente y está compuesta por árboles de poró (*Erythrina* sp.) y guaba (*Inga edulis*).

#### ***3.1.1 Descripción general de los ensayos***

La investigación se dividió en dos partes: la primera se trató de un análisis de datos históricos fenológicos y climáticos recopilados durante 9 años por el Programa de Mejoramiento Genético del CATIE en el experimento L6. El objetivo fue generar, a partir de la información acumulada, árboles de regresión que jerarquizaran los predictores más relevantes de la incidencia de la moniliasis sobre los diferentes clones del experimento a través

del tiempo. La segunda parte se basó en un ensayo de campo para estudiar el microclima de cada fruto y correlacionarlo con el desarrollo epidemiológico de la enfermedad. Se colocó una estación Campbell en una parcela expuesta al sol y otra en una parcela más sombreada, cada una con 1 sensor de humedad relativa y temperatura, 2 sensores de mojadura y 3 sensores de temperatura del fruto. También se colocó en el área experimental una trampa Burkard con el fin de cuantificar la cantidad de esporas en el aire a través del tiempo. Esta trampa fue colocada en la repetición 2 del ensayo, contiguo a la estación microclimática más expuesta al sol. A continuación se detallan más ampliamente estas dos fases.

### **3.2 Análisis de datos históricos**

El Programa de Mejoramiento Genético del CATIE ha recopilado durante los últimos 9 años información sobre la producción de frutos e incidencia de moniliasis para cada árbol del ensayo L6. Además, la finca cuenta con una estación meteorológica en la cual se ha colectado la información climática del mismo período. Se generó una base de datos donde se acumuló la producción y la incidencia de la enfermedad por año, con el fin de relacionar esta información con los datos macroclimáticos del mismo período. La información se analizó mediante la técnica de árboles de regresión por medio del programa Answertree, cuyo fin fue jerarquizar los predictores de la incidencia de la enfermedad según su importancia. Esta incidencia se representó mediante la variable “porcentaje de mazorcas enfermas por parcela”, la cual fue explicada mediante los árboles de regresión que se construyeron. Una vez concluida la base de datos, se notó que había faltantes en los datos de humedad relativa para los meses de agosto, setiembre y octubre, por lo tanto estos meses no fueron tomados en cuenta al correr el programa.

Como se mencionó en el párrafo anterior, la variable explicada mediante los árboles fue el porcentaje de mazorcas enfermas, la cual es una variable cuantitativa, por lo tanto el programa procedió a analizar los datos por medio de una prueba de F con un 95% de confianza. No se aceptó la generación de grupos con menos de 50 individuos; si el análisis proponía crear grupos con menos de 50 individuos, el árbol se detuvo en el nivel previo. El total de individuos (parcelas) analizados mediante esta técnica fue de 1409, que son el

resultado de 42 clones x 4 repeticiones x 9 años (1512 parcelas), menos algunas parcelas que no produjeron frutos en determinados momentos, en las cuales no se podía determinar el porcentaje real de frutos enfermos en ausencia de los mismos.

Se generaron tres árboles de regresión: el primero incluye todas las variables, el segundo excluye la variable “clon”, y el tercero excluye las variables “año” y “clon”. Estas variables fueron excluidas debido a que su poder explicativo es muy amplio y pueden enmascarar las variables que en realidad están explicando la incidencia de la enfermedad.

### **3.3 Medición de variables microclimáticas**

Para este ensayo se seleccionó uno de los 42 clones (Pound 7) de L6 debido a su alta productividad y susceptibilidad a la moniliasis, además de su posición dentro del ensayo. La susceptibilidad a la enfermedad de este clon fue determinada por el Programa de Mejoramiento Genético mediante inoculaciones artificiales y registros de incidencia natural.

El Pound 7 está sembrado en cuatro parcelas del ensayo L6, cada una constituida por dos hileras de cuatro árboles, para un total de ocho árboles por parcela. En dos de ellas se instalaron estaciones microclimáticas Campbell por considerarse que representaban condiciones microclimáticamente contrastantes: una parcela más expuesta al sol (repetición 2 de L6) y otra parcela más sombreada (repetición 4).

En cada una de las estaciones se instaló 1 sensor de humedad relativa y temperatura del aire, 2 sensores rígidos de mojadura y 3 sensores de temperatura del fruto. Dichas estaciones fueron programadas para realizar lecturas de las distintas variables microclimáticas cada 30 segundos, y registrar un promedio de esas mediciones cada media hora durante todo el día, por todos los días del ensayo.

### 3.3.1 Distribución de los sensores en cada parcela

En cada una de las parcelas seleccionadas, se colocó la estación en el centro de los 8 árboles, como lo indica la Figura 1:

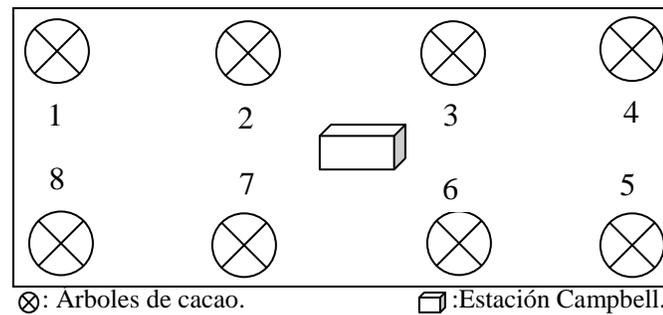


Figura 1. Diagrama de ubicación de las estaciones Campbell en las parcelas.

La figura a continuación muestra como el sensor de humedad relativa y temperatura del aire se instaló contiguo a cada estación, a una altura de 1,4m.



Figura 2. Estación Campbell junto a sensor de Humedad Relativa y Temperatura del aire.

Los sensores rígidos de mojadura se montaron sobre estacas de bambú y se colocaron en el centro de los árboles seleccionados, atados al tronco principal a una altura de 1,4m. A continuación se muestra la forma en que se colocaron estos sensores:



*Figura 3. Instalación de los sensores de mojadura.*

En la repetición 2 (expuesta al sol), estos sensores se colocaron en los árboles 3 y 7, y en la repetición 4 (sombreada) los sensores rígidos de mojadura del fruto se colocaron en los árboles 3 y 6, ya que para esa parcela el árbol 7 estaba muerto.

Los sensores de temperatura del fruto consistieron en dos cables muy delgados: uno de cobre y otro de constantano. Estos se unieron en el extremo final mediante soldadura y de acuerdo con las diferencias de conducción eléctrica de ambos metales se determinó la temperatura de los frutos durante el día. Para esto, el extremo soldado de los cables se colocó en contacto directo con mazorcas sanas sujetado con ligas de hule. Las puntas de los sensores se cubrieron con una capucha de plástico blanco para prevenir su alteración por la exposición directa a los rayos del sol.

Como se mencionó anteriormente, para el ensayo se contó con tres sensores de temperatura del fruto para cada estación; cada uno de estos se colocó a diferentes alturas: 0,5 m 1,8 m y 2,6 m. Inicialmente, estos sensores se colocaron en los árboles 3, 7 y 8 en la repetición 2 y en los árboles 3, 4 y 6 en la repetición 4, sin embargo estos sensores estuvieron cambiándose de posición debido a la infección de los frutos con alguna enfermedad. En la Figura 4 se puede observar la forma de instalación de estos sensores.



*Figura 4. Instalación sensores de temperatura del fruto.*

Los cables que conectaron los diferentes sensores a su respectiva estación fueron enterrados, además las estaciones estuvieron aseguradas con el fin de que no sufrieran ninguna alteración por vandalismo. Además, tiempo después de la instalación, fue instalado un sistema a tierra para evitar que descargas eléctricas afectaran el funcionamiento del equipo.

Las baterías de estos equipos se cambiaron cada 3 ó 4 días y antes de cada cambio de batería la información recopilada por las estaciones se descargó a una computadora.

### ***3.3.2 Comparación de las estaciones de las parcelas de sol y sombra***

Se compararon las variaciones diarias de microclima al sol y a sombra en días sin lluvia, con lluvia menor a los 5 mm y con lluvia mayor a los 5 mm. Para cada tiempo registrado se promediaron los datos de temperaturas y humedad relativa; para la mojadura se calculó la frecuencia de mojadura (promedio del porcentaje de sensores mojados, considerando que los sensores estaban mojados cuando las estaciones reportaban valores menores a los 1000 k $\Omega$ ). Por último, se calcularon los errores estándar para comprobar las diferencias.

### 3.4 Captura de esporas mediante trampa Burkard

El objetivo fue contabilizar las esporas de *M. roreri* en el aire y correlacionar los picos de liberación con las condiciones climáticas. Para el experimento se contó con una trampa Burkard, la cual fue instalada en la repetición 2 del ensayo, en la posición que muestra la Figura 5.

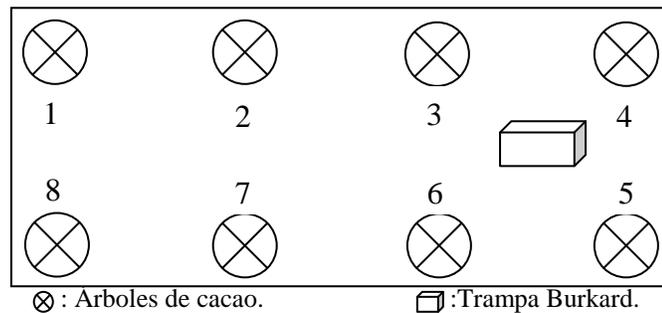


Figura 5. Diagrama de ubicación de la trampa Burkard en las parcelas expuestas al sol.

La ubicación de la trampa se determinó por la disponibilidad del equipo, ya que al contar sólo con una trampa Burkard, era importante colocarla cerca de alguna de las estaciones.

Una trampa Burkard consiste en un aparato capaz de girar a favor del viento, gracias a la aleta que posee en el extremo contrario a la boquilla de aspiración. Las medidas de la boquilla son de 2 x 14mm. El aire se aspira con determinada fuerza de acuerdo con la potencia del motor de la trampa, e inmediatamente después de que ingresa por la boquilla es recibido por un disco que gira en sentido contrario a las agujas de reloj, impulsado por un reloj de cuerda y completa una vuelta entera en una semana. Este disco, denominado “tambor” posee una cinta o banda plástica de 14mm de ancho alrededor de todo su perímetro, la cual está recubierta de un gel en donde se adhieren las esporas absorbidas por la trampa. Dicho tambor se coloca de una manera determinada de acuerdo a las marcas de inicio, con el fin de no confundir el inicio y el final de la banda. Una vez transcurrida la semana de muestreo, el tambor se retira en un recipiente específico que impide la contaminación y manipulación de la banda. Ya en el laboratorio se retira la banda con el gel con mucha precaución para no confundir el inicio y el final de la misma. La banda se divide en siete porciones bien medidas

con los instrumentos determinados para este propósito. Cada porción corresponde a un día, y es sobre estas porciones que se realizan los conteos y el reconocimiento de esporas por horas.

Para la captura de esporas en el presente ensayo la trampa se montó sobre una base metálica, tomando en cuenta que la boquilla de absorción del aire estuviera a una altura de 1,5m. Este equipo también estuvo asegurado para prevenir alteraciones por vandalismo. Este equipo también estuvo conectado al sistema a tierra para proteger de descargas eléctricas.

Al inicio del experimento fue colocado un tambor en la trampa cada 15 días, pero al final del experimento, los tambores fueron colocados cada semana, siempre arrancando a las 10:00am. Una vez iniciada la aspiración se midió siempre el volumen de absorción de aire en la boquilla con la ayuda de una pipa de calibración para este tipo de trampas. El valor de calibración fue 10L de aire por minuto, el cual es un valor estándar para este aparato que permite determinar la cantidad real de esporas atrapadas en el tiempo.

Las baterías de la trampa se cambiaron cada 3 ó 4 días. En cada cambio de batería se reguló la aspiración del aire con la pipa, para no perder el volumen de aire estándar necesario para los cálculos correctos.

La cinta plástica de los tambores se recubrió con un gel que se preparó con 75% de vaselina sólida, 25% de vaselina líquida y 10% de etanol. El período para completar una vuelta entera del tambor fue de una semana. Una vez transcurrido este período se extrajo el mismo de la trampa y se trasladó al laboratorio en un recipiente cerrado diseñado para proteger el gel con las esporas. Una vez en el laboratorio se desprendió la cinta gel y se dividió en 7 porciones que representarán un día cada una, según el sentido en que giró el tambor. Para realizar los conteos de las esporas de *M. royeri* se montaron las porciones del gel en un portaobjetos bien identificado con una solución de 35g de Gelvatol, 50ml de glicerol y 100ml de agua, utilizada para fijar la cinta al portaobjetos.

### **3.4.1 *Conteo de esporas en el laboratorio***

De acuerdo a la longitud estándar de la cinta sobre los tambores, cada 2mm representa aproximadamente una hora del día, por lo que se procedió a contar, en el microscopio de luz a través del lente de 40X, una franja vertical de la cinta, que según las mediciones del campo visual del microscopio en ese aumento, corresponde a 0,5mm de la misma. Esto significa que para cada trozo de cinta que equivale a un día se obtuvieron 24 datos que multiplicados por 4 equivalen a las 24 horas del día, iniciando a las 10:00am.

Para obtener el número de esporas capturadas por metro cúbico de aire se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Número de esporas capturadas / m}^3 \text{ de aire} = (\# \text{ de esporas contadas} \times 4) / (0,6)$$

En la fórmula anterior, el número de esporas contadas corresponde a las esporas que se contaron en las franjas de 0,5 mm observadas por cada hora. Este número se multiplica por cuatro ya que 2mm de banda representa aproximadamente una hora.

La constante 0,6 surge de que en una hora la trampa calibrada absorbe 600 litros de aire, y un metro cúbico equivale a 1000 litros.

#### **3.4.1.1 Análisis de los conteos de esporas**

Se construyeron curvas de dispersión promedio a través del día en tres categorías de precipitación (0 mm, < 5 mm, > 5 mm) y se calcularon los errores estándar de cada categoría para comparar las dispersiones entre los tres tipos de día.

Para la correlación entre las capturas de esporas de monilia y las variables climáticas se seleccionaron los últimos 7 días de captura para cada categoría de precipitación (0mm, <5mm y >5mm) para un total de 21 días de captura. Por último se realizó una comparación gráfica de las curvas de microclima y de dispersión.

### 3.5 Evaluación de síntomas a través del tiempo

Debido a la escasez de frutos en las parcelas se procedió a realizar polinizaciones artificiales durante el mes de febrero. Se marcaron 4 generaciones de frutos separadas por aproximadamente un mes, iniciando en marzo y culminando en junio. Todos los frutos cuajados incluidos en el estudio se embolsaron con el fin de mantenerlos sanos hasta el inicio del ensayo.

#### 3.5.1 Marcaje de frutos para cada generación

En cada fecha determinada llamada Generación, se recorrió cada una de las parcelas, árbol por árbol, marcando con una etiqueta numérica frutos sanos de aproximadamente 1 a 2 meses, o sea frutos de 3,5 a 11cm de largo. Una vez etiquetadas, estas mazorcas fueron medidas y liberadas de su bolsa. Para la Generación 1, ese momento fue considerado el tiempo cero del experimento. En el Cuadro 1 se aprecian las fechas de inicio o marcaje de frutos para cada generación:

*Cuadro 1. Fechas de inicio para cada generación de frutos.*

<b>Generación</b>	<b>Fecha inicio</b>
1	03/03/2010
2	31/03/2010
3	17/05/2010
4	16/06/2010

Las generaciones no están igualmente distanciadas debido a que hubo que esperar hasta que existiera un número considerable de mazorcas de cierto rango de edad acumulado para considerarlo una nueva generación de mazorcas. En algunos momentos no hubo flores disponibles para realizar las polinizaciones artificiales.

### 3.5.2 Observación de los síntomas

Dos semanas después del marcado de los frutos de cada generación, estos se volvieron a medir y se determinó si presentaban alguno de los síntomas/signos externos de la moniliasis: giba, amarillamiento prematuro, puntos, mancha, esporulación o si ya eran momias. A continuación se observa una figura descriptiva de los síntomas externos:



Figura 6. Síntomas/signos externos de *M. royeri*

A partir de esa segunda fecha se empezó a evaluar los síntomas cada semana. Se completaron un total de 19 evaluaciones para la Generación 1, 16 para las Generaciones 2 y 3, y 12 evaluaciones para la Generación 4. Se dejó de evaluar en el momento en que todas las mazorcas infectadas por *M. royeri* alcanzaron el estado de momia, las sanas alcanzaron la madurez y el resto se identificaron con pérdidas por otras enfermedades o algún otro factor.

### **3.5.2.1 Análisis del efecto de las generaciones de frutos y la sintomatología**

Para evaluar estadísticamente el efecto de las generaciones de frutos sobre la incidencia de la moniliasis se corrieron modelos generales y mixtos. Se trabajó sobre el total de mazorcas afectadas en las 30 plantas del ensayo. La variable de respuesta fue el número de mazorcas enfermas, el factor fijo fue la generación y el factor aleatorio fueron los conteos.

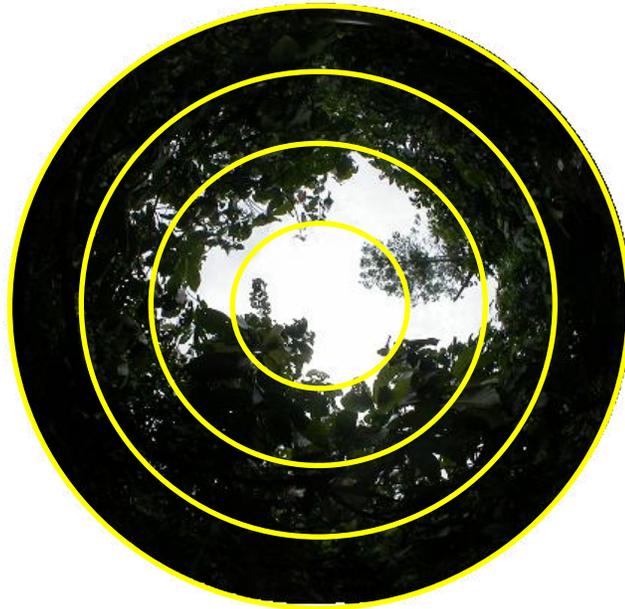
Para determinar diferencias entre las curvas de incidencia de las generaciones, se realizó una regresión lineal con un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$ . Para alcanzar este nivel de significancia, los datos fueron transformados mediante la creación de variables auxiliares o variables *dummy*.

Sin embargo, este análisis solamente permitió determinar si la curva de la Generación 1 se diferenciaba estadísticamente en su ordenada al origen, en su pendiente o en su curvatura de las curvas de las otras tres generaciones. Para determinar las diferencias en ordenada al origen, en pendiente o en curvatura del resto de las generaciones entre sí se realizó un análisis de varianza mediante contrastes.

Con respecto a la sintomatología, se realizaron gráficos de la aparición de los síntomas a través del tiempo y se procedió a explicarlos en detalle para lograr un mayor entendimiento de la aparición de los síntomas por generación.

## **3.6 Medición de la sombra**

Para determinar la sombra de cada árbol del ensayo se procedió a tomar fotos esféricas de cada uno de los árboles en dos fechas cercanas al inicio y final del ensayo: 14 de abril y 17 de setiembre del 2010. Cada foto fue analizada mediante el programa Gap Light Analyzer, con el fin de obtener el porcentaje de cielo de cada uno de los sectores de la foto. En la siguiente figura se determinan dichos sectores:



*Figura 7. Determinación de los sectores de sombra.*

El sector 1 corresponde al círculo más pequeño, cercano al tronco principal del árbol, el sector 2 corresponde al círculo que le sigue en tamaño, en orden ascendente, e incluye el área del sector 1, y así sucesivamente hasta llegar al sector 4, el cual corresponde al área total de la fotografía.

Una vez que se obtuvo los valores del porcentaje de cielo para cada sector de cada foto se procedió a promediar los valores de cada fecha, con el fin de obtener cuatro valores, correspondientes a cada sector, para cada uno de los 30 árboles.

### ***3.6.1 Análisis del efecto de la sombra sobre la incidencia de la enfermedad***

Para determinar el efecto de la sombra sobre la incidencia de la moniliasis se procedió a realizar un análisis de regresión con un 95% de confianza entre la variable de respuesta (número de frutos enfermos) y los cuatro diferentes porcentajes de cielo promedio por árbol.

### **3.7 Cálculo de la tasas de crecimiento aparente de las curvas**

Una vez construidas las curvas del avance de la enfermedad a través del tiempo por generación, se procedió a linealizar las porciones iniciales de cada curva, donde se aprecia un aumento más marcado de frutos enfermos; después de este período, las curvas se van estabilizando. Dicha linealización se llevó a cabo transformando los datos de las primeras fechas de muestreo mediante los siguientes logaritmos:  $\log(x/1-x)$  y  $\log(1/1-x)$ , las cuales son fórmulas propuestas por Van der Plank (1963) para determinar si las curvas de evolución del porcentaje de mazorcas infectadas se asemejaban más a curvas de intereses compuestos o a curvas de intereses simples, respectivamente. En ambas linealizaciones no se tomó en cuenta la primera fecha de cada curva debido a que el primer logaritmo no existe con un valor de  $x=0$ .

De acuerdo con los valores de  $r^2$  resultantes de las linealizaciones, se determinó cuál ajuste fue el mejor. En caso de que fuera el  $\log 1/1-x$ , se incluyó la primera fecha en el cálculo.

La tasa de crecimiento corresponde a la pendiente de la recta que mejor se ajustó.

#### ***3.7.1 Análisis del efecto del microclima de los primeros días del ensayo sobre las tasas de crecimiento***

Se calculó el promedio diario de las variables climáticas registradas (temperatura del aire, temperatura del fruto, mojadura del fruto y humedad relativa) en la primera semana de vida de las mazorcas y también hasta la tercera semana. Se corrieron correlaciones entre esos promedios y las tasas de crecimiento.

## **4 RESULTADOS**

### **4.1 Análisis de datos históricos**

Después de generar una base de datos que agrupó los datos históricos del Programa de Mejoramiento Genético de Cacao del CATIE y los datos macroclimáticos provenientes de la estación meteorológica situada en la finca La Lola, se procedió a analizar los datos usando el programa Answertree con el final de explicar la variable de respuesta (porcentaje de mazorcas enfermas) mediante la agrupación de las 1409 parcelas en nudos jerarquizados por su poder explicativo. Dado que hubo algunos faltantes en los datos de humedad relativa para los meses de agosto, setiembre y octubre, esta variable no se tomó en cuenta al correr el programa.

Una vez filtrada la información, se generaron árboles de regresión usando todas las variables disponibles para explicar el porcentaje de mazorcas enfermas por parcela (Figura 8). El clon fue la variable más importante que explica el porcentaje de mazorcas enfermas por planta durante el año. Así, el nudo 4, constituido por los clones CATIE R-2, CATIE R-4, CATIE R-5 y CATIE R-6 (8, 10, 11, 12) presenta el menor porcentaje de frutos enfermos en promedio, con un valor de 8,31%. Al otro extremo, el nudo 7, que agrupa los clones CATIE-1000, ICS-44, Pound-7, SCA-6, SCA-12 y RB-41 (18, 29, 33, 36, 37, 41), posee el porcentaje más alto de mazorcas enfermas, con un promedio de 71,64%. Es importante señalar que en este grupo de clones se encuentra el Pound-7, que es el clon seleccionado para el ensayo en campo.

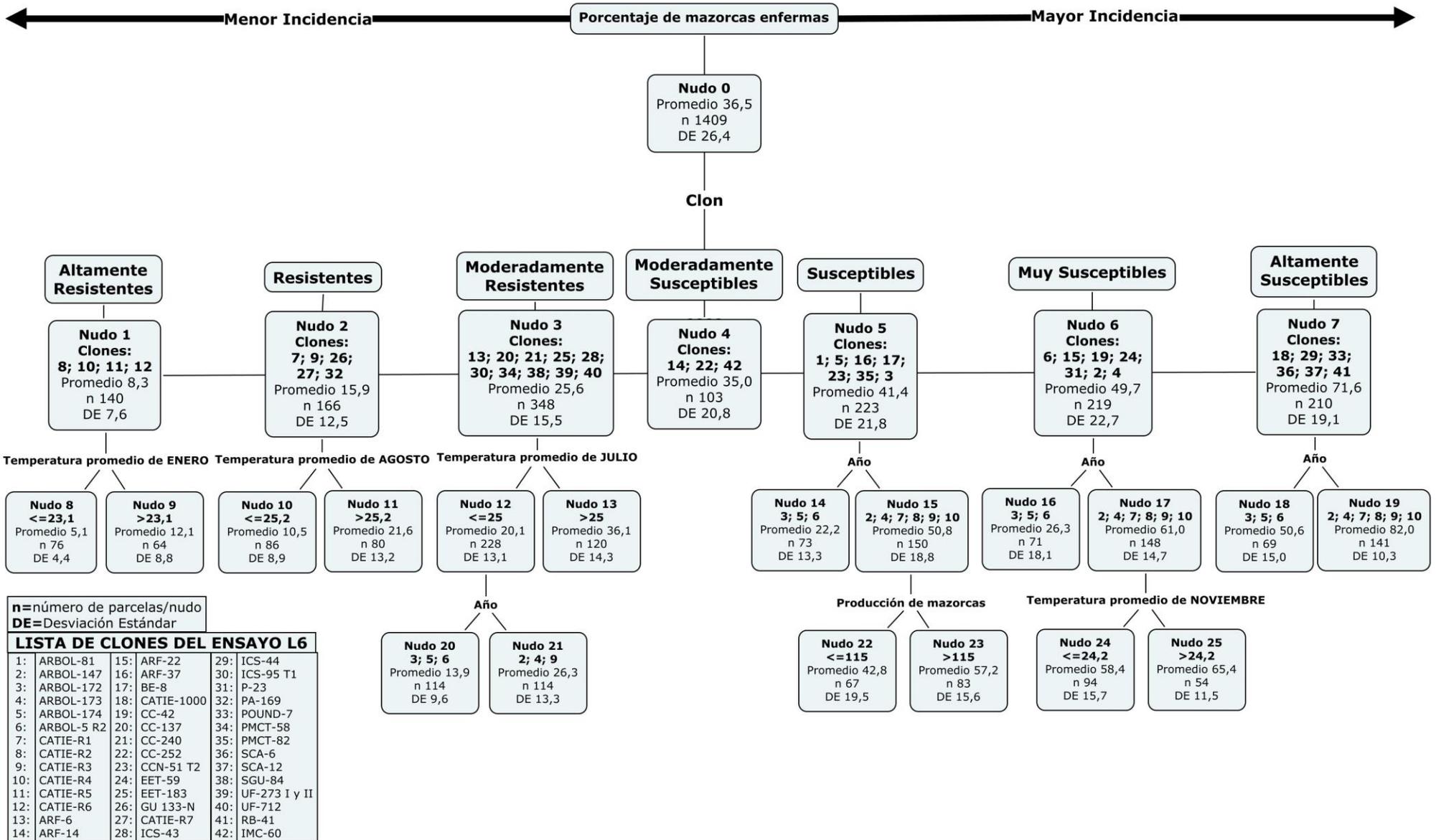


Figura 8. Árbol de regresión para explicar el porcentaje de mazorcas enfermas por año, en función de variables ambientales, fenológicas y de producción.

En el segundo nivel, para los nudos 1, 2 y 3, la variable descriptiva más importante después del clon es la temperatura promedio de enero, agosto y julio, respectivamente. Dichos nudos se dividen en otros 2 nudos partiendo de un valor de temperatura: 23,1°C para enero, 25,2°C para el mes de agosto, y 25°C para el mes de julio. Para el nudo 1, se obtiene un 5,1% de frutos con presencia del hongo cuando la temperatura promedio del mes de enero es menor o igual a 23,1°C (nudo 8), y un 12,1% de frutos infectados cuando las temperaturas promedio de este mes son superiores a 23,1°C (nudo 9). El nudo 2 ubica al menor porcentaje promedio de frutos enfermos (10,5%) en el nudo 10, que corresponde a temperaturas del mes de agosto iguales o inferiores a 25,2°C; y al mayor porcentaje promedio de mazorcas con monilia (21,6%) en el nudo 11, con valores temperaturas mayores a 25,2°C. Por último entre la división por temperaturas, el nudo 3 se divide en los nudos 12 y 13, que corresponden a valores de temperatura promedio para el mes de julio iguales o menores a 25°C (que genera un valor promedio de frutos enfermos de 20,1%), y mayores a 25°C (con un 36,1% de mazorcas infectadas) respectivamente.

Siempre en el segundo nivel, otra variable que aparece como segunda en importancia es el año, para los nudos 5, 6 y 7. El nudo 5 se divide en nudos 14 y 15, donde el primero de estos (año 3, 5, 6) representa el grupo con menor porcentaje promedio de infección (22,2%), y el nudo 15 (año 2, 4, 7, 8, 9, 10) el grupo con mayor infección (50,8%). En el nudo 6 también se da una segunda división por año (nudo 16 y 17) cuyos años correspondientes son los mismos que los de los nudos 14 y 15 respectivamente. De igual manera, los grupos de años tienen el mismo comportamiento: el nudo 16 representa el menor porcentaje promedio de frutos enfermos (26,3%), y el nudo 17 es el promedio mayor con un porcentaje de 61,0. Por último, el nudo 7 se bifurca de la misma manera que los 2 nudos anteriores, con las mismas agrupaciones de años, pero con valores promedio de mazorcas enfermas de 50,6% para el nudo 18, y 82,0% para el nudo 19.

Ya en el tercer nivel, las variables descriptivas más importantes, después del clon y año/temperatura de ciertos meses, son la producción de mazorcas, la temperatura promedio del mes de noviembre y el año en el nudo 12, donde no hubo división por año en los niveles anteriores.

Más en detalle, el nudo 12 forma dos grupos según la variable año. El primer grupo (nudo 20) lo constituye los años 3, 5 y 6, y entre ellos promedian un porcentaje de ataque de la enfermedad de 13,9%. El nudo 21 representa al segundo grupo de años (2, 4 y 9) y posee un porcentaje de ataque promedio de 26,3. El nudo 15 se divide en dos grupos según la producción de mazorcas por parcela; el valor de bifurcación es de 115 mazorcas. El nudo 22, que corresponde a producciones menores o iguales a 115 frutos presentan un porcentaje promedio de infección de 42,8%. Las producciones mayores a 115 mazorcas están agrupadas en el nudo 23, con un porcentaje de infección promedio de 57,2%.

Para finalizar la explicación de la Figura 8, la última división en el nivel 3 se observa en el nudo 17, que se divide en dos grupos de acuerdo a la temperatura promedio del mes de noviembre. Con valores iguales o inferiores a 24,2°C se sitúa el nudo 24 con una infección promedio de 58,4%. Con valores de temperatura superiores a la anterior se encuentra el nudo 25 con un promedio de mazorcas enfermas de 65,4%.

La Figura 9 se generó excluyendo la variable “clon”. El año resultó ser el predictor más importante para explicar el porcentaje de frutos enfermos por año. Esta variable divide al total de datos en cuatro nudos. El nudo 1 está constituido por el año 5 con un promedio de 18,1% de frutos enfermos. El nudo 2 lo forman los años 3 y 6, con un promedio de 22,9% de frutos enfermos. El tercer nudo lo constituyen los años 2, 4 y 9, los cuales poseen un porcentaje de frutos enfermos promedio de 40,6%. Por último, el nudo 4 está formado por los años 7, 8 y 10 con un promedio de 47,1% de mazorcas infectadas por *M. royeri*.

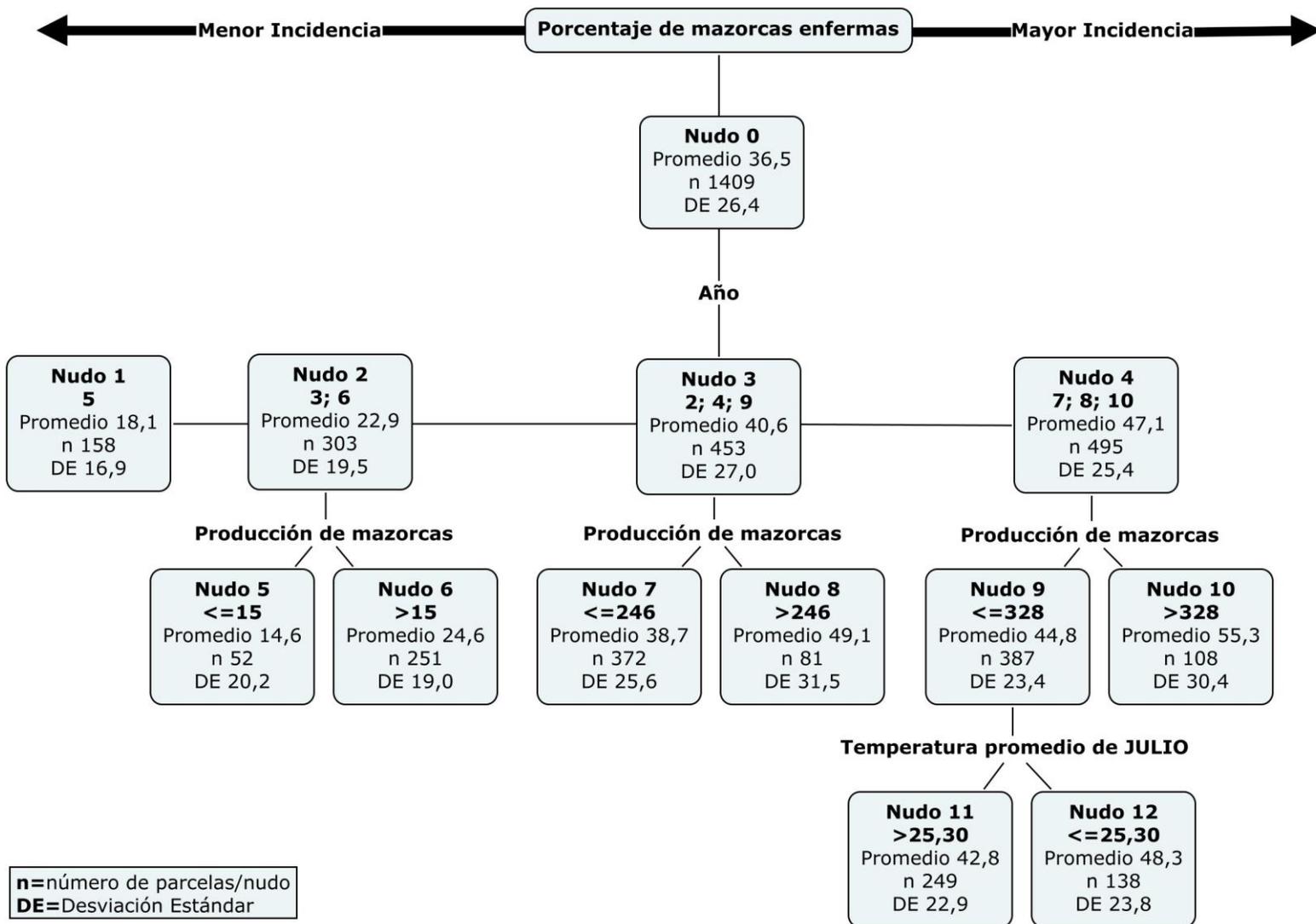


Figura 9. Árbol de regresión para explicar el porcentaje de mazorcas enfermas por año, en función de variables ambientales y de producción (excluye la variable “clon”).

Se observa claramente que en el año 5 se presentó el menor porcentaje promedio de frutos enfermos. En los años 2, 4, 7, 8, 9 y 10 se presentaron los porcentajes más altos de mazorcas enfermas.

En la Figura 9 aparece la producción de mazorcas como el segundo predictor más importante. Con este predictor nudo 2 se divide en 2 grupos según su producción: igual o menos de 15 frutos (nudo 5) y más de 15 frutos (nudo 6). Las parcelas del primer grupo presentan un porcentaje de mazorcas enfermas de 14,6, y las del otro grupo un 24,6%. El nudo 3 se divide en dos grupos productivos: menor o igual a 246 mazorcas (nudo 7) y más de

246 mazorcas (nudo 8), con un 38,7% y un 49,1% de mazorcas enfermas respectivamente. Por último, el nudo 4 se divide en los nudos 9 y 10, con valores de producción de mazorcas de igual o menos de 328 mazorcas y más de 328 mazorcas respectivamente. El nudo 9 presenta un porcentaje de frutos enfermos de 44,8 y el nudo 10 un 55,3%.

Como tercer y último predictor según su importancia está la temperatura promedio del mes de julio, el cual permite la división del nudo 9 (con producción  $\leq$  a 328 mazorcas) en el nudo 11 con temperaturas mayores a 25,3°C y en nudo 12 con temperaturas menores o iguales a 25,3°C para dicho mes. Dichos nudos poseen un 42,8% y un 48,3% de frutos enfermos respectivamente.

Como último análisis de jerarquización de las variables explicativas de la incidencia de la enfermedad por año, se corrió un análisis excluyendo las variables “clon” y “año” (Figura 10):

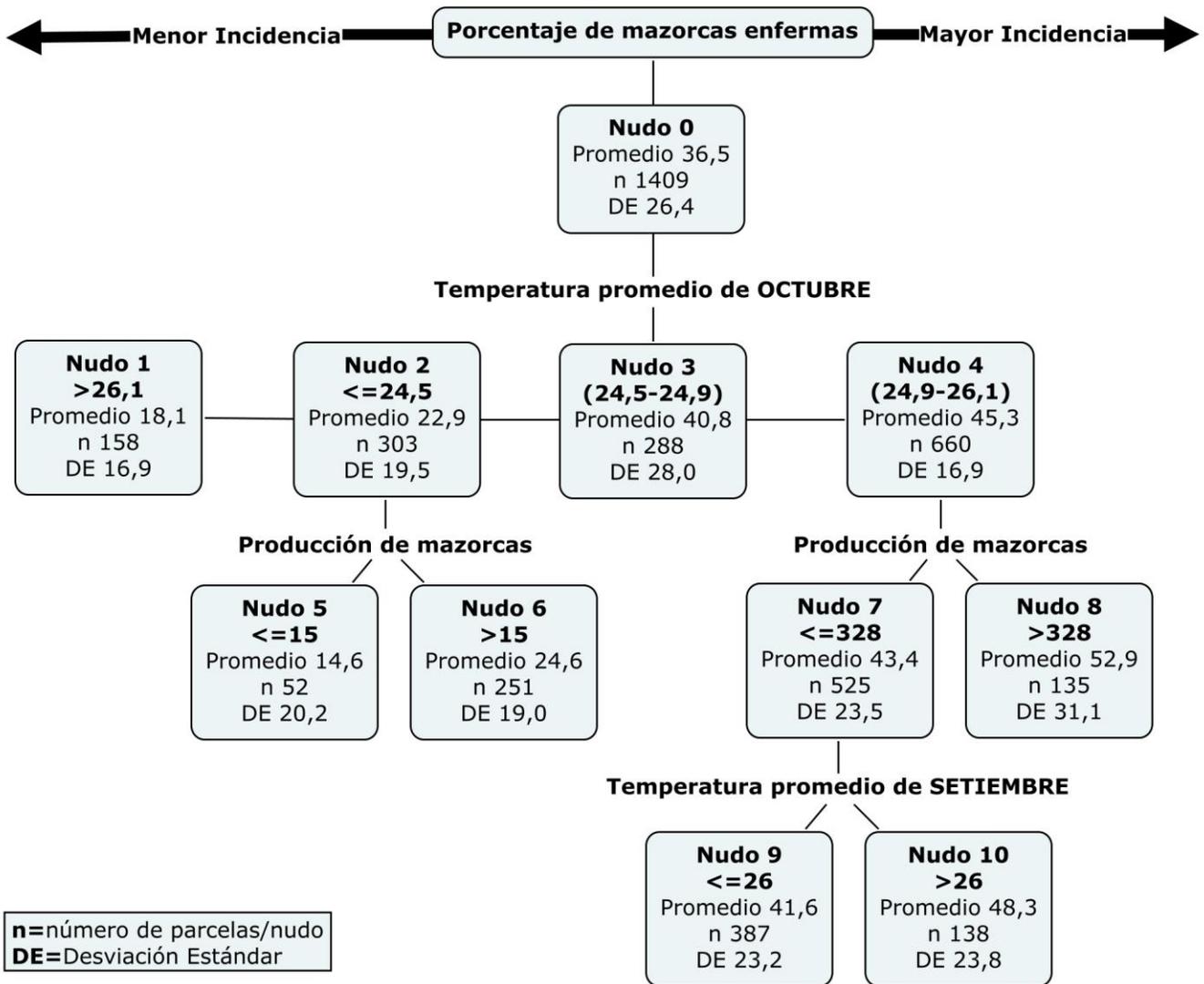


Figura10. Árbol de regresión para explicar el porcentaje de mazorcas enfermas por año, en función de variables ambientales y de producción (excluye las variables “clon” y “árbol”).

El predictor más importante fue la temperatura promedio del mes de octubre. Dicho predictor divide el total de datos en cuatro grupos: el primer nudo los conforman datos con temperaturas mayores a 26,1°C, estos datos poseen una media de porcentaje de frutos enfermos de 18,1%. El segundo nudo está compuesto por temperaturas menores o iguales a 24,5°C, cuyo promedio del porcentaje de mazorcas enfermas es de 22,9%. Como nudo 3 se encuentran temperaturas promedio que van desde 24,5 a 24,9°C, cuyo porcentaje promedio de frutos enfermos es de 40,8%. El cuarto y último grupo está compuesto por temperaturas en un rango de 24,9 a 26,1°C, con un porcentaje promedio de infección de frutos de 45,3%.

En el nivel 2 aparece la producción de mazorcas como segunda variable más explicativa, de ahí que el nudo 2 se divide en dos grupos: con una producción  $\leq 15$  (nudo 5) y con producción  $> 15$  frutos (nudo 6). El nudo 5 tiene un promedio de 14,6% de frutos enfermos y el nudo 6 un promedio de 24,6%. En este mismo nivel, el nudo 4 se divide en los nudos 7 y 8, con producciones menores o iguales, y mayores a 328 frutos respectivamente. El porcentaje de mazorcas enfermas para el nudo 7 es de 43,4%, y para el nudo 8 es de 52,9%.

En el tercer y último nivel aparece la variable temperatura promedio del mes de setiembre como la tercera variable con mayor poder explicativo. Dicha variable divide al nudo 7 en otros dos grupos: nudo 9 y 10. El nudo 9 lo constituyen las temperaturas iguales o menores a 26°C con un promedio de incidencia de moniliasis 41,6%. El nudo 10 está compuesto por las temperaturas por encima de los 26°C y presenta un promedio de mazorcas infectadas de 48,3%.

En resumen, según lo que se observa en este árbol (Figura 10), al excluir las variables “clon” y “año”, las variables que toman mayor poder explicativo son la temperatura promedio del mes de octubre, la producción de mazorcas y la temperatura promedio del mes de setiembre respectivamente.

## **4.2 Avance de los síntomas por generación**

En la Figura 11 se muestran el surgimiento y avance de los diferentes síntomas de la moniliasis para cada generación de frutos. La primera evaluación se realizó a las 2 semanas del inicio del inicio de cada generación; después de esta, las evaluaciones se realizaron semanalmente.

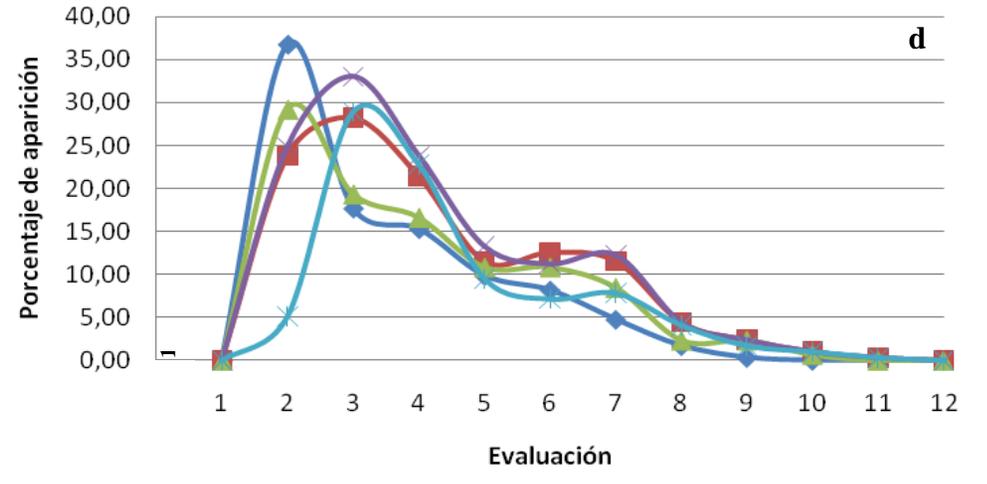
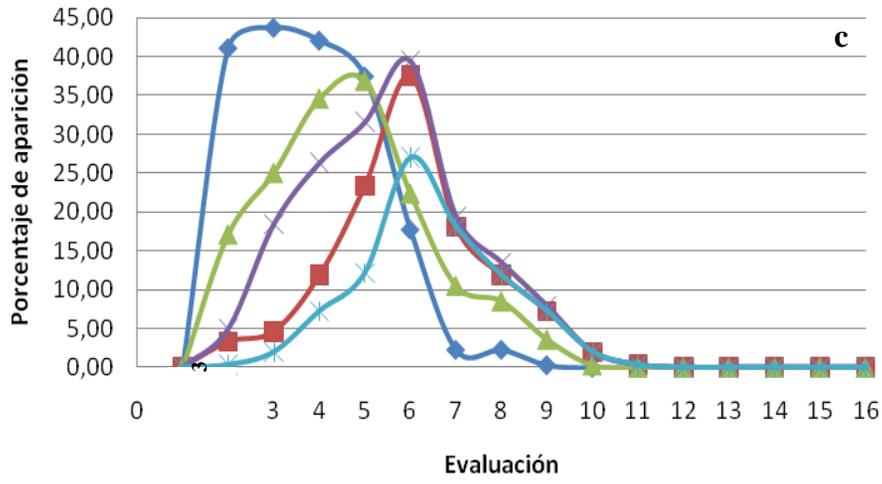
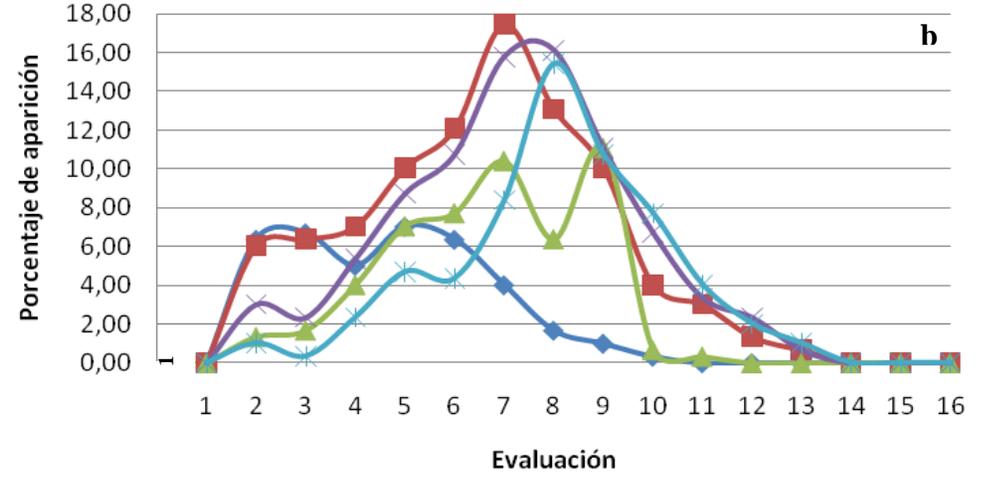
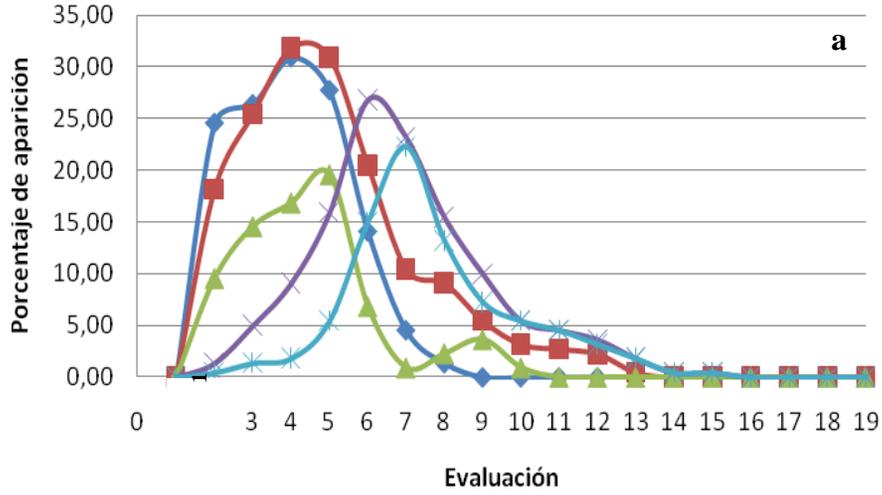


Figura 11. Desarrollo de síntomas para las Generaciones 1 (a), 2 (b), 3 (c) y 4 (d).

Para la Generación 1, el primer síntoma en alcanzar su punto máximo fue la giba (4 semanas), seguido casi inmediatamente por el amarillamiento prematuro de los frutos (Figura 11a). El tercer síntoma en alcanzar este punto fueron los puntos aceitosos (5 semanas), que a su vez fueron formando la mancha chocolate, que alcanzó su porcentaje de frutos a las 6 semanas. La última manifestación en aparecer fueron los signos del hongo en forma de una esporulación sobre las manchas, cuyo punto máximo de aparición sobre los frutos fue a las 7 semanas.

En la Generación 2 el orden de aparición en el tiempo de los valores máximos alcanzados por los diferentes síntomas no varían con respecto a la Generación 1 (Figura 11b). Las gibas aparecen en forma temprana y llevan a su máximo porcentaje a las 3 semanas. El punto máximo del amarillamiento prematuro de los frutos se logra a las 7 semanas. Entre la semana 7 y 9 también se alcanzan los porcentajes máximos de aparición de los puntos aceitosos. La mancha chocolate es el cuarto síntoma en llevar a su máximo valor (7,5 semanas). Como último síntoma/signo aparece la esporulación, que logra su punto máximo en 8 semanas.

Para la Generación 3, la dinámica de los síntomas fue diferente a las otras generaciones y se dio de la siguiente manera: gibas (3 semanas), puntos aceitosos (5 semanas), mancha chocolate, amarillamiento prematuro y esporulación (6 semanas) (Figura 11c).

De acuerdo con la Figura 11d, en la Generación 4, el orden de aparición del punto máximo de cada uno de los síntomas inicia con las gibas y los puntos aceitosos que logran su máximo porcentaje a las 2 semanas, seguido por la mancha chocolate, el amarillamiento prematuro y la esporulación a las 3 semanas del ensayo (Figura 11c).

Para la Generación 1, el amarillamiento prematuro es el síntoma de la enfermedad que aparece en el mayor porcentaje del total de frutos (31,8%), seguido por las gibas (30,9%), la mancha chocolate (26,8%), la esporulación (22,3%) y por último los puntos aceitosos (19,6%).

La Generación 2 presenta un porcentaje mucho menor de frutos con giba (alrededor de un 7%), mientras que en la Generación 1 se alcanzó un 30,9% de frutos gibados en la evaluación 3.

Al igual que en la Generación 1, el amarillamiento prematuro es el síntoma que se presenta en la mayor cantidad de frutos en la Generación 2. En general, los frutos de la Generación 2 presentan menores porcentajes de cada uno de los síntomas que los frutos de la Generación 1.

En las Generaciones 3 y 4, el síntoma que se presenta en mayor proporción son las gibas, a diferencia de las Generaciones 1 y 2.

#### 4.2.1 Distribución de cada síntoma a través del tiempo por generación

Las siguientes figuras presentan la evolución de cada síntoma en las cuatro generaciones de frutos:

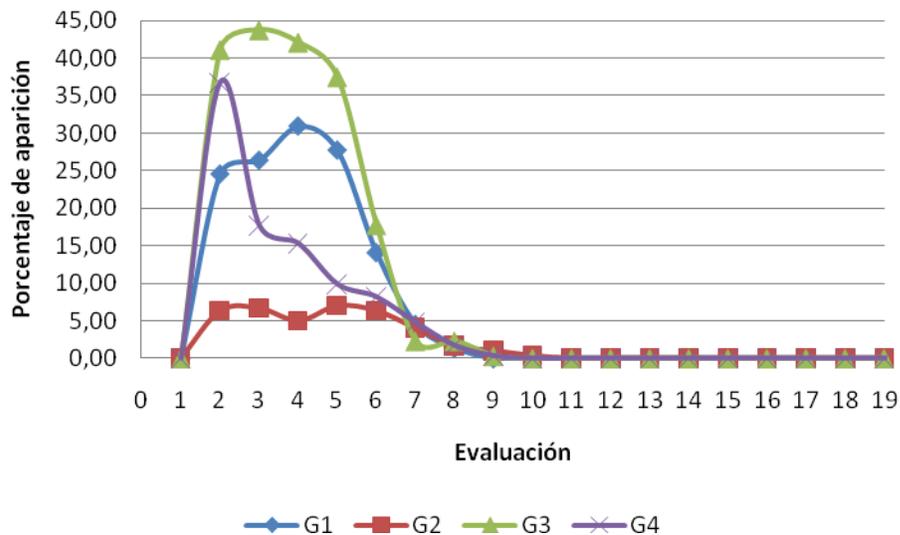


Figura 12. Desarrollo de las gibas en las cuatro generaciones de frutos.

Como se observa en la Figura 12, la giba es un síntoma que se presenta de manera temprana. La Generación 3 presenta la mayor proporción de frutos gibados, alcanzando un porcentaje de alrededor de 43%. A esta la sigue la Generación 4 con un 37% de frutos con gibas y la Generación 1 (31%). La Generación 2 presenta el menor porcentaje de gibas (7%), el cual es un porcentaje bastante pequeño en comparación con las otras tres generaciones.

La Figura 13 contiene los síntomas restantes por generación.

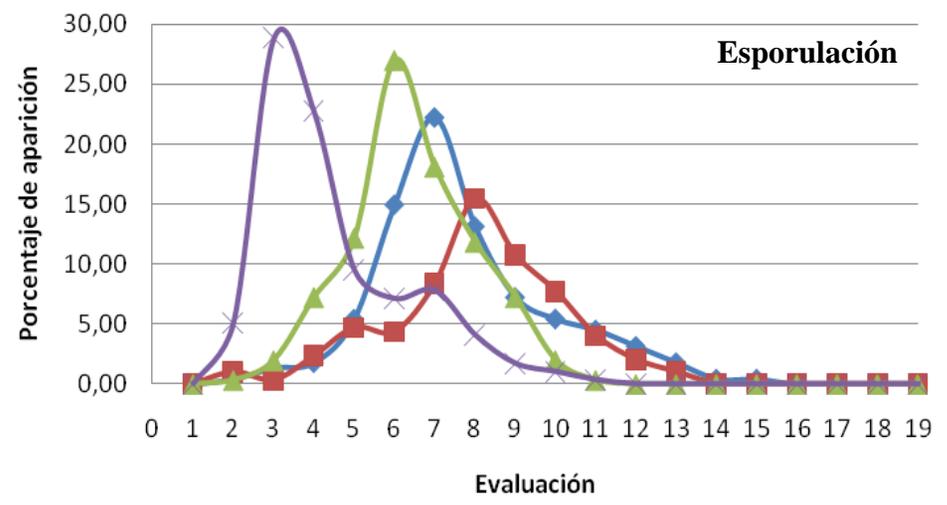
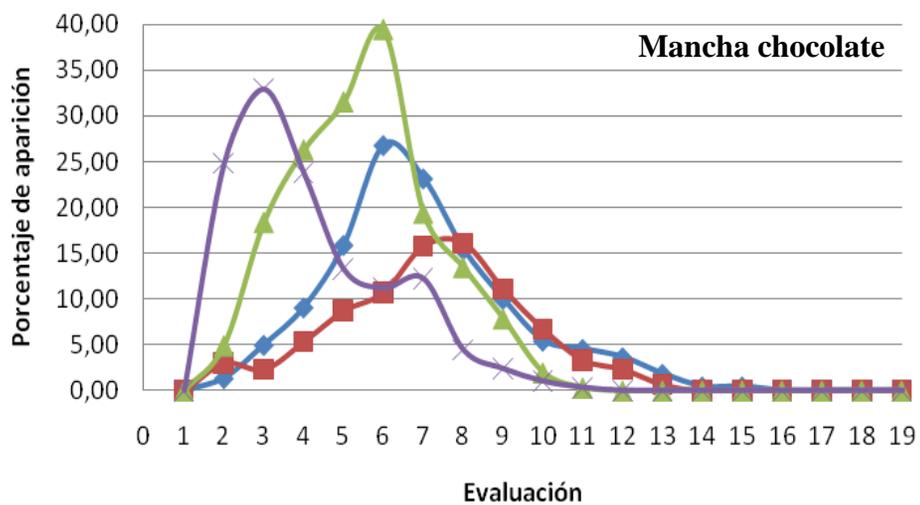
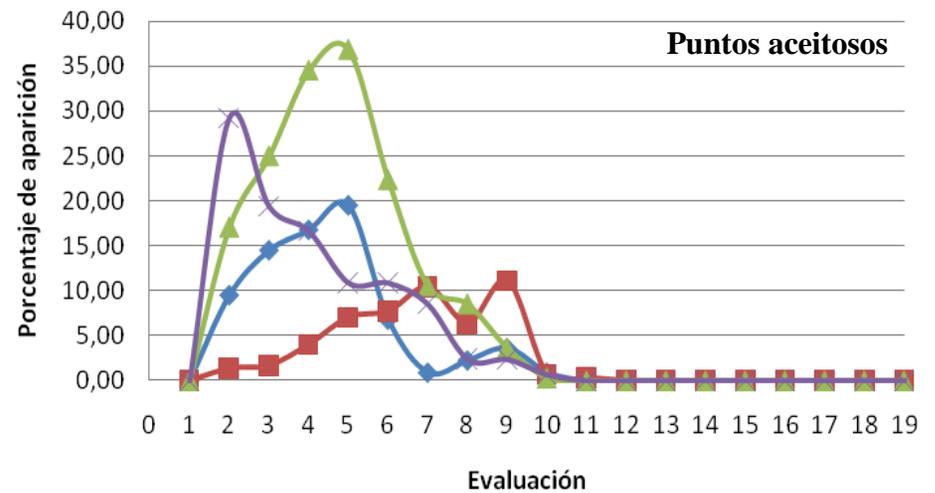
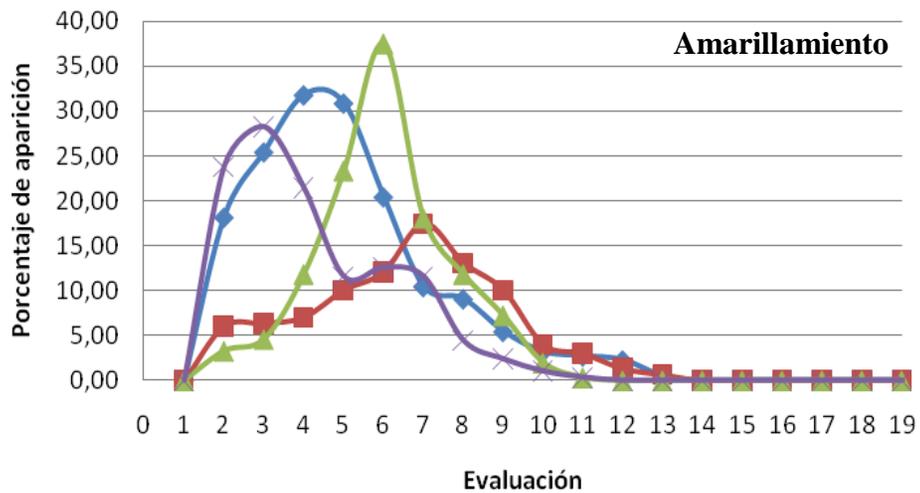


Figura 13. Desarrollo de algunos síntomas en las cuatro generaciones de frutos.

Con respecto al amarillamiento prematuro en las Generaciones 1 y 4 se presenta en evaluaciones tempranas, mientras que las Generaciones 2 y 3 presentan sus puntos máximos de forma más tardía.

El porcentaje más alto de este síntoma en las cuatro generaciones lo posee la Generación 3 con aproximadamente un 37%. La Generación 1 presenta 32 % de frutos con amarillamiento, la Generación 4 un 27%, y por último la Generación 2 con solamente 17% del total de los frutos.

Los puntos aceitosos aparecen más rápidamente en las Generaciones 3 y 4, las cuales poseen los porcentajes más elevados de este síntoma (37 % y 30 % respectivamente). El 20% de los frutos de la Generación 1 presentan este síntoma, y de la Generación 2 solamente un 12% de las mazorcas totales.

La Generación 3 posee la mayor cantidad de mazorcas con manchas chocolate (39%), la Generación 4 la sigue con un 33% de los frutos. Las Generaciones 1 y 2 presentan este síntoma en un 27 % y un 17 % (respectivamente) de las mazorcas.

La esporulación se presenta en a partir de la mitad del ensayo, a excepción de en la Generación 4, donde el máximo de frutos esporulados (30 %) se alcanza a las 3 semanas. La Generación 3 es la segunda generación con la mayor cantidad de frutos con esporulación (27 %). Por último, la Generación 1 presenta un 22% de mazorcas esporuladas y la Generación 2 un 16 % del total.

### **4.3 Progreso de la enfermedad por generación**

En la Figura 14 se aprecia las curvas de enfermedad para cada una de las generaciones de frutos; en todas ellas se evidencia la forma de “J” inversa.

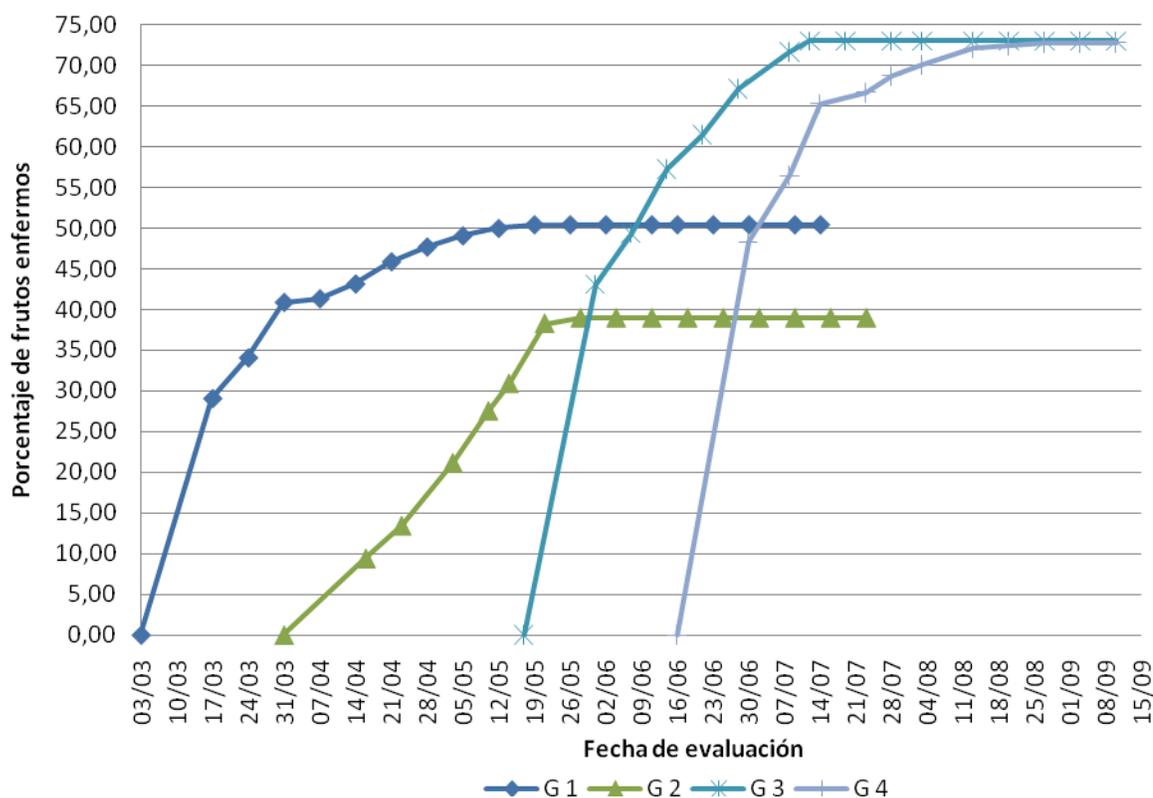


Figura 14. Porcentaje de infección de frutos acumulados por fecha para cada generación.

Los siguientes cuadros resumen los resultados de los análisis a los que fueron sometidas las curvas de la Figura 14 con el fin de determinar si existen diferencias entre ellas.

Cuadro 2. Diferencias entre curvas de generación en la ordenada al origen.

Ordenada al origen	p-valor
G1-G2	0,0617
G1-G3	0,8349
G1-G4	0,5686
<b>G2-G3</b>	<b>0,0492</b>
G2-G4	0,2827
G3-G4	0,4685

Con respecto a la ordenada al origen, el análisis señala que solamente existen diferencias significativas entre la Generación 2 y la Generación 3. De acuerdo al valor de p de las demás combinaciones, estas no son diferentes estadísticamente.

En cuanto a diferencias en pendiente, la Generación 1 es diferente estadísticamente a las Generaciones 3 y 4, mientras que con respecto a la Generación 2 no presenta diferencias significativas (Cuadro 3). Sin embargo, la Generación 2 presenta diferencias significativas con relación a la Generación 3 y a las Generación 4. Por último, la pendiente de la Generación 3 y la pendiente de la Generación 4 no son distintas estadísticamente hablando.

*Cuadro 3. Diferencias entre curvas de generación en el componente pendiente.*

<b>Pendiente</b>	<b>p-valor</b>
G1-G2	0,0844
<b>G1-G3</b>	<b>0,0001</b>
<b>G1-G4</b>	<b>&lt;0,0001</b>
<b>G2-G3</b>	<b>0,0387</b>
<b>G2-G4</b>	<b>0,0022</b>
G3-G4	0,1108

Según el Cuadro 4, el componente cuadrático o la curvatura de la Generación 1 es estadísticamente diferente al componente cuadrático de la Generación 3. Lo mismo sucede con las combinaciones entre la Generación 1 - Generación 4, la Generación 2 - Generación 4 y la Generación 3 - Generación 4. Por otro lado, las curvaturas de las combinaciones Generación 1 - Generación 2 y Generación 2 - Generación 3 no presentan diferencias significativas.

Cuadro 4. Diferencias entre curvas de generación en el componente curvatura.

<b>Curvatura</b>	<b>p-valor</b>
G1-G2	0,1180
<b>G1-G3</b>	<b>0,0005</b>
<b>G1-G4</b>	<b>0,0001</b>
G2-G3	0,0743
<b>G2-G4</b>	<b>0,0016</b>
<b>G3-G4</b>	<b>0,0319</b>

El siguiente cuadro resume todas las combinaciones de las generaciones y su significancia en los tres niveles de las curvas:

Cuadro 5. Resumen de las diferencias estadísticas entre curvas de generación.

<b>Combinación</b>	<b>Ordenada al origen</b>	<b>Pendiente</b>	<b>Curvatura</b>
G1-G2	No diferentes	No diferentes	No diferentes
G1-G3	No diferentes	<i>Diferentes</i>	<i>Diferentes</i>
G1-G4	No diferentes	<i>Diferentes</i>	<i>Diferentes</i>
G2-G3	<i>Diferentes</i>	<i>Diferentes</i>	No diferentes
G2-G4	No diferentes	<i>Diferentes</i>	<i>Diferentes</i>
G3-G4	No diferentes	No diferentes	<i>Diferentes</i>

De acuerdo al Cuadro 5, las curvas de la Generación 1 y Generación 2 no son estadísticamente diferentes en ningún nivel. Las curvas de la Generación 1 y Generación 3 son estadísticamente diferentes en pendiente y curvatura, pero no en ordenada al origen. De igual manera, las curvas de la Generación 1 y Generación 4 son estadísticamente diferentes en pendiente y curvatura, pero no en ordenada al origen. Las curvas de la Generación 2 y la Generación 3 presentan diferencias significativas en cuanto a la ordenada al origen y la pendiente, pero no presentan diferencias significativas en curvatura. Las curvas de la Generación 2 y Generación 4 son estadísticamente diferentes en pendiente y curvatura, pero no en ordenada al origen. Por último, las curvas de la Generación 3 y la Generación 4 sólo presentan diferencias significativas en cuanto a curvatura, ya que en ordenada al origen y pendiente no presentan diferencias significativas.

### 4.3.1 Efecto de la sombra

Se corrió una regresión lineal entre la sombra y el porcentaje final del ataque para determinar la influencia o no de la sombra sobre la variable respuesta.

Tal y como se explicó en la metodología, la sombra se dividió en cuatro valores que corresponden a los diferentes sectores de cielo concéntricos acumulados de cada foto. En el Cuadro 6 se observan los resultados de la regresión lineal entre el porcentaje final de infección por planta y los cuatro sectores de sombra.

Se encontró una relación significativa para el sector de sombra más cercano al tronco, que indica la influencia de esta variable sobre la enfermedad aunque el valor de  $r^2=0,03$  indica que esta variable explica solamente un pequeño porcentaje de la variable de respuesta, es decir, el ataque de la enfermedad se explica mayormente por otros factores como la época de emergencia (generación), el microclima, entre otros.

*Cuadro 6. Valor de p de la regresión lineal realizada entre la curva de la Generación 1 y la sombra.*

<b>Sector de sombra</b>	<b>p-valor</b>
<i>Sector 1</i>	<i>0,0452</i>
Sector 2	0,0612
Sector 3	0,1303
Sector 4	0,1550

En el Cuadro 7 se presentan los coeficientes de regresión y los estadísticos asociados de la regresión lineal que se realizó entre la incidencia de la enfermedad y el sector 1 de cielo.

*Cuadro 7. Coeficientes de regresión y estadísticos asociados.*

Coeficiente	Valor Estimado	Error Estándar	Intervalo de confianza		Estadístico T	p-valor
			LI (95 %)	LS (95%)		
Sector 1	-1,24	0,61	-2,46	-0,03	-2,03	0,0452

De acuerdo con los estadísticos asociados del Cuadro 7, la relación entre la variable de respuesta y el sector 1 es negativa, por lo que a mayor porcentaje de cielo en el sector, menor porcentaje de frutos enfermos en los árboles. Esto quiere decir que la sombra favorece el aumento en la incidencia de la enfermedad.

#### **4.4 Tasas de crecimiento aparente en las curvas**

En las Figuras 15, 16, 17 y 18 se muestran los ajustes de linealización de la curva del progreso de la enfermedad en cada generación. Estos cálculos se realizaron para reforzar el hecho de que las cuatro curvas de la Figura 14 tienen forma de J inversa, típica de las enfermedades monocíclicas.

Cada figura presenta dos curvas debido a que cada una de ellas representa el resultado de la linealización del inicio de la misma curva mediante la fórmula de las enfermedades monocíclicas y la fórmula de las policíclicas.

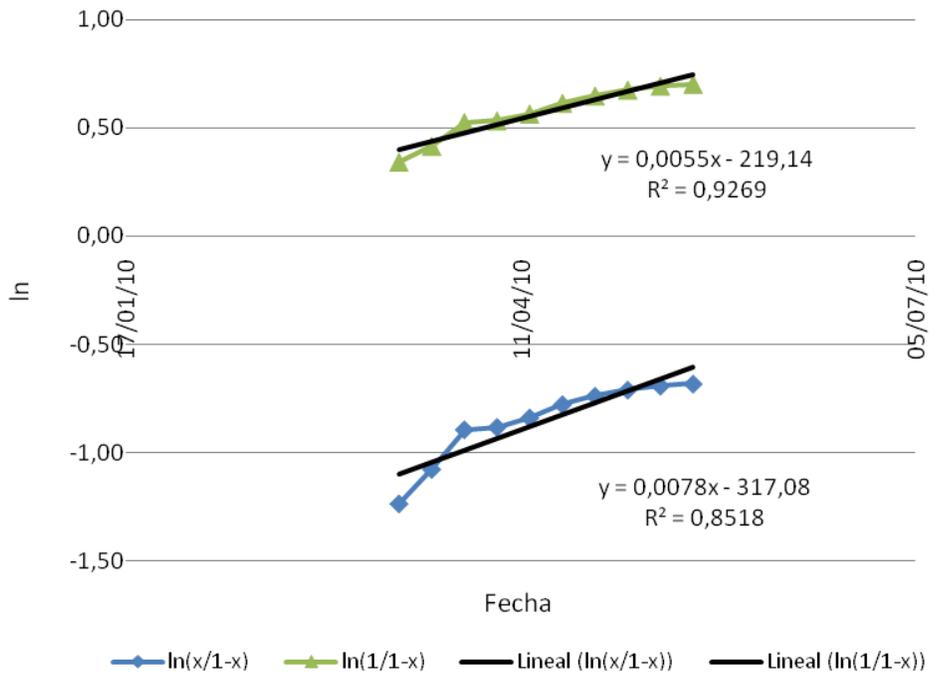


Figura 15. Cálculo de la tasa de crecimiento aparente para la curva de la Generación 1.

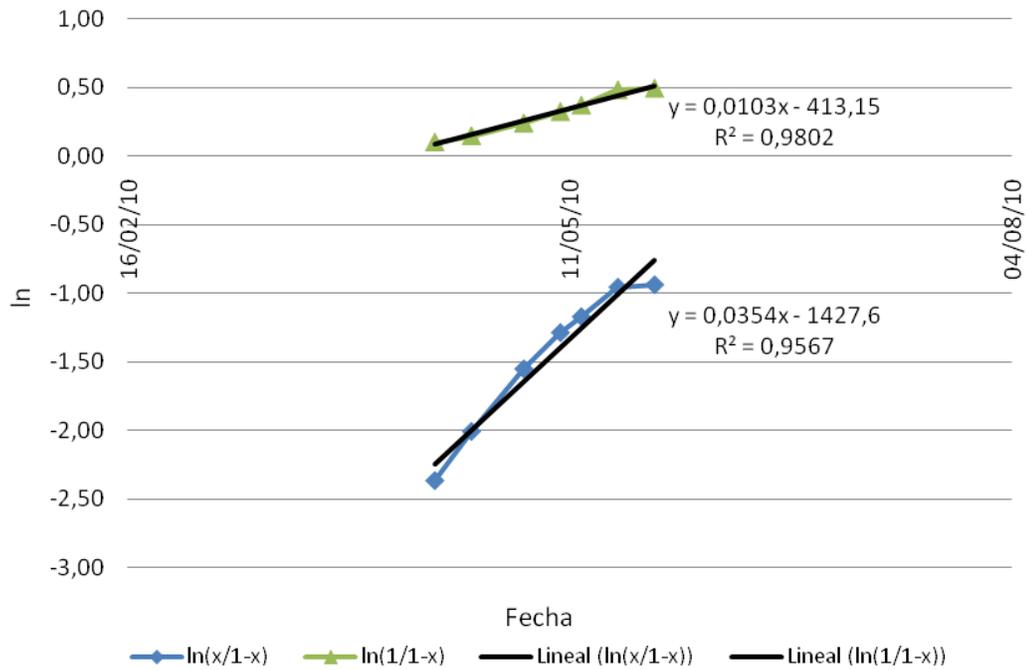


Figura 16. Cálculo de la tasa de crecimiento aparente para la curva de la Generación 2.

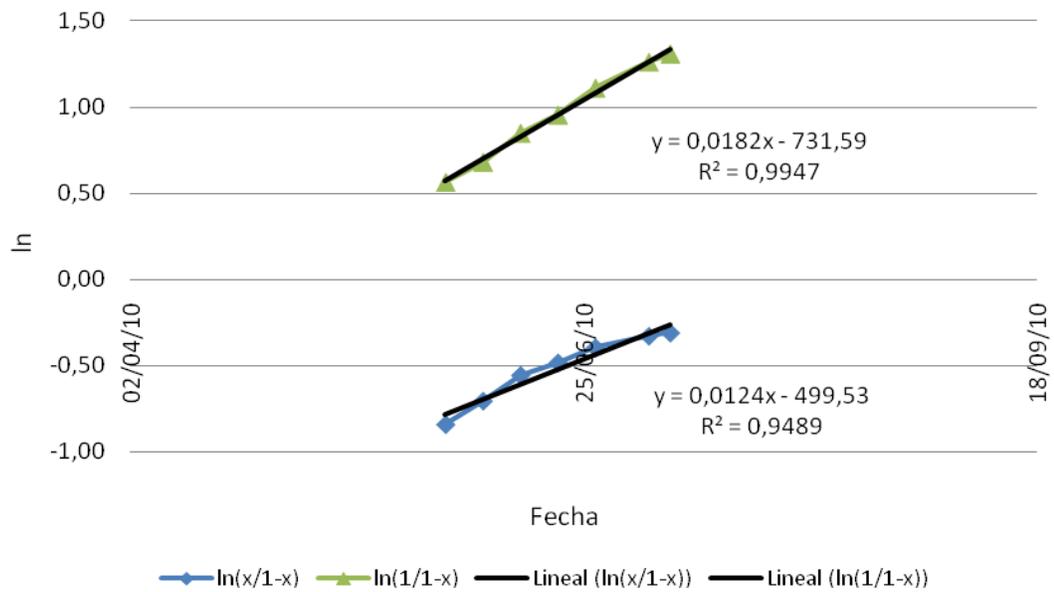


Figura 17. Cálculo de la tasa de crecimiento aparente para la curva de la Generación 3.

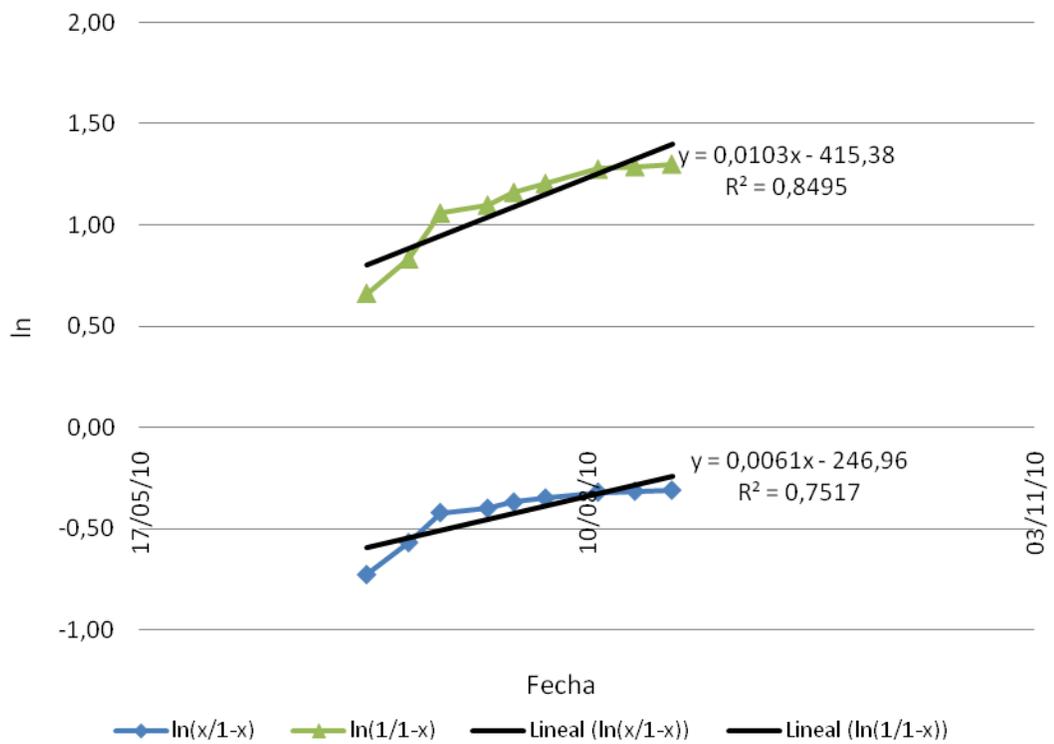


Figura 18. Cálculo de la tasa de crecimiento aparente para la curva de la Generación 4.

Las curvas de las cuatro generaciones de frutos se adaptaron mejor a la ecuación de enfermedades monocíclicas para el cálculo de la tasa de crecimiento aparente. Esto se respalda con los valores de  $r^2$  que se obtuvieron con la linealización. El siguiente cuadro resume mejor dichos valores.

*Cuadro 8. Valor de  $r^2$  para el ajuste lineal de las tasas de crecimiento aparente por generación.*

Curvas	Valor de $r^2$	
	Monociclo (1/1-x)	Policiclo (x/1-x)
G1	<b>0,9269</b>	0,8518
G2	<b>0,9802</b>	0,9567
G3	<b>0,9947</b>	0,9489
G4	<b>0,8495</b>	0,7517

#### ***4.4.1 Unificación de las cuatro curvas de cada generación***

En la Figura 19 se observa una línea central (marcadores en forma de cuadrado), denominada total que representa la unificación de los datos recolectados de todas las generaciones en todo el período del ensayo. La curva resultante toma una forma sigmoide, diferente a la forma de J inversa de las curvas individuales.

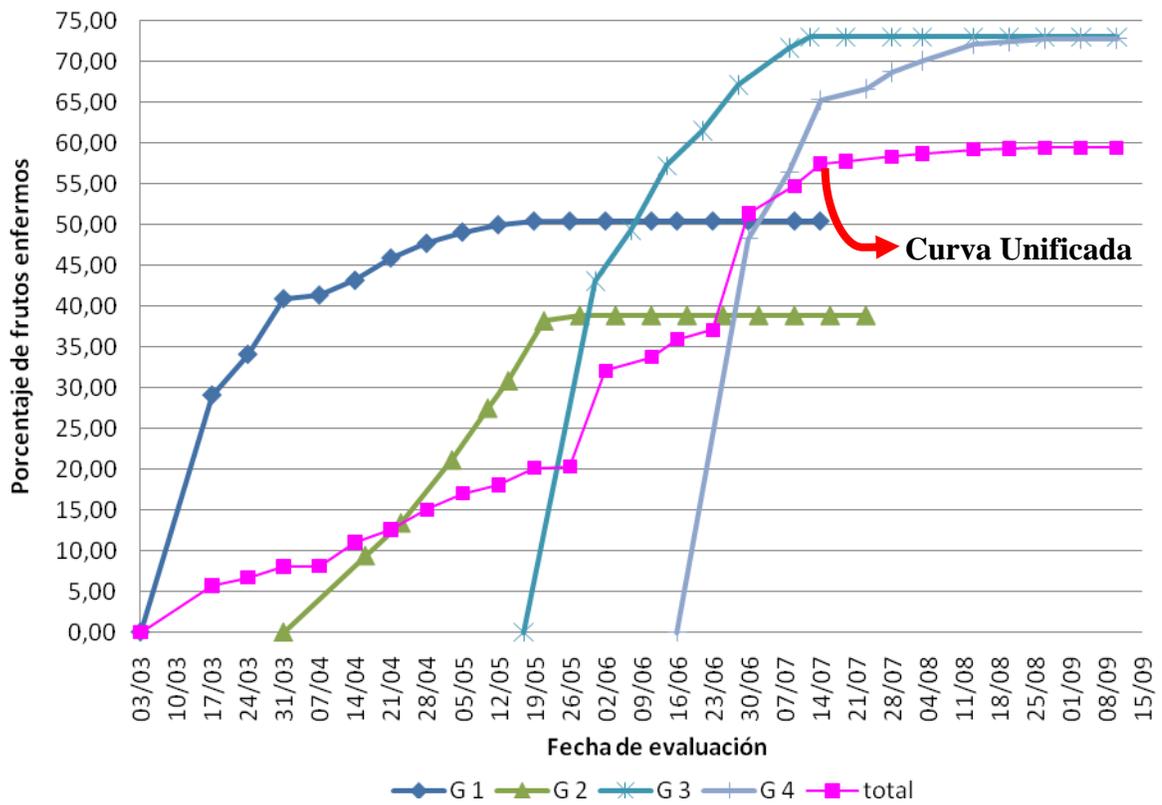


Figura 19. Curva de sumatoria de las 4 generaciones.

A la curva unificada se le calculó la tasa de crecimiento aparente mediante ambas fórmulas y se procedió a linealizarla. En la siguiente figura se muestran estos cálculos con sus resultados:

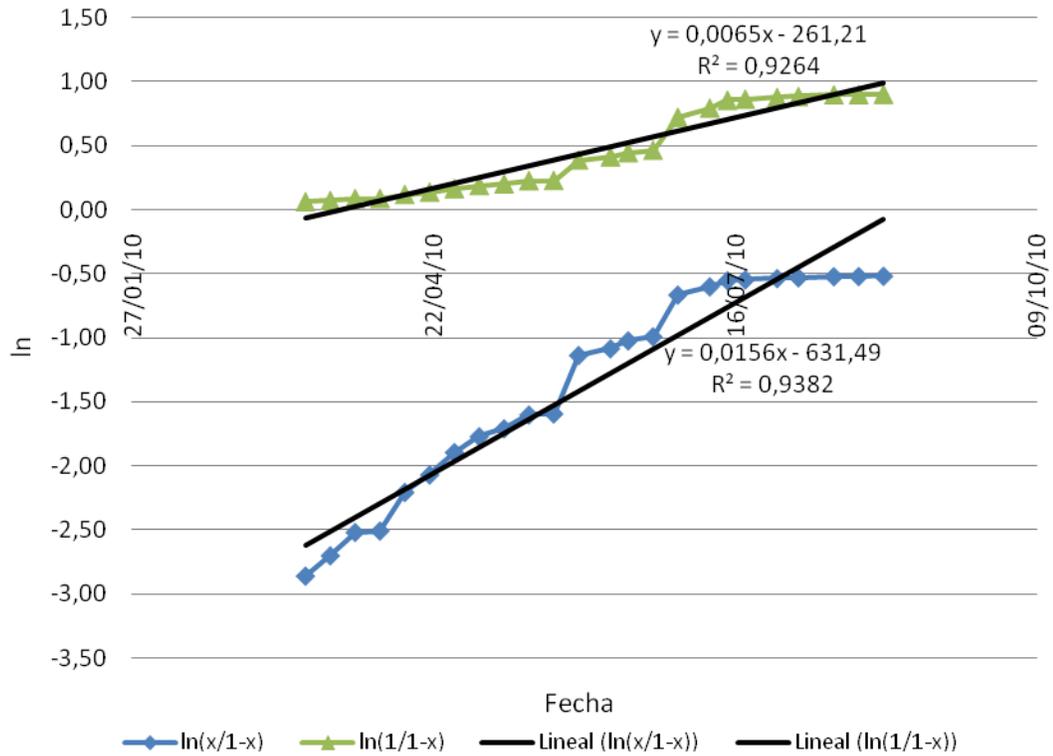


Figura 20 Cálculo de la tasa de crecimiento aparente para la curva sumatoria de las cuatro generaciones.

La recta resultante se ajusta mejor a la fórmula dada para las enfermedades policíclicas ( $r^2=0,9382$ ), esto quiere decir que la curva “total” se comporta como un conjunto de monociclos o un policiclo, dando una ilusión de epidemia.

Como conclusión de sección, el Cuadro 9 presenta las tasas de crecimiento obtenidas para cada generación de mazorcas:

Cuadro 9. Tasas de crecimiento de la enfermedad para cada generación de frutos.

Generación	Tasa de crecimiento diario
G 1	0,0077
G 2	0,0092
G 3	0,022
G 4	0,0156

De acuerdo con el cuadro anterior, la Generación 3 presenta la mayor tasa de crecimiento diario de la enfermedad, seguida por la Generación 4, la Generación 2 y por último, con la menor tasa, la Generación 1. Esto corresponde a lo que se observa en la Figura 14.

#### 4.5 Relación entre las tasas de crecimiento y el microclima

Para explicar las tasas de crecimiento de la enfermedad se procedió a realizar una regresión lineal entre las mismas y el microclima de los primeros 7 y 21 días. De los cuatro factores microclimáticos (temperatura del aire, temperatura del fruto, mojadura del fruto y humedad relativa) los únicos que tuvieron una relación considerable fueron la temperatura del aire y la temperatura del fruto, con valores de  $r^2$  superiores a 0,6787. Sin embargo la relación de las tasas de crecimiento con la temperatura del aire y del fruto de los primeros 21 días ( $r^2 = 0,8622$ ;  $r^2 = 0,8702$  respectivamente) fue mejor que con los primeros 7 días ( $r^2 = 0,5588$ ;  $r^2 = 0,6787$  respectivamente), (Figuras 21 y 22).

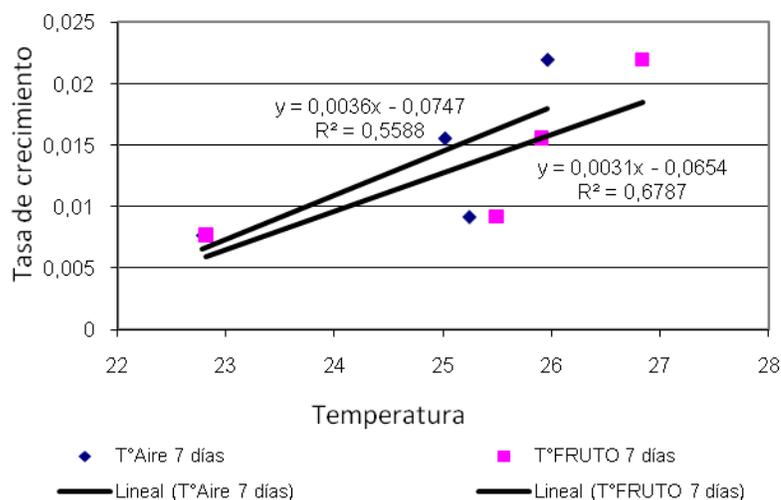


Figura 21. Regresión lineal entre las tasas de crecimiento y la temperatura promedio de los primeros 7 días.

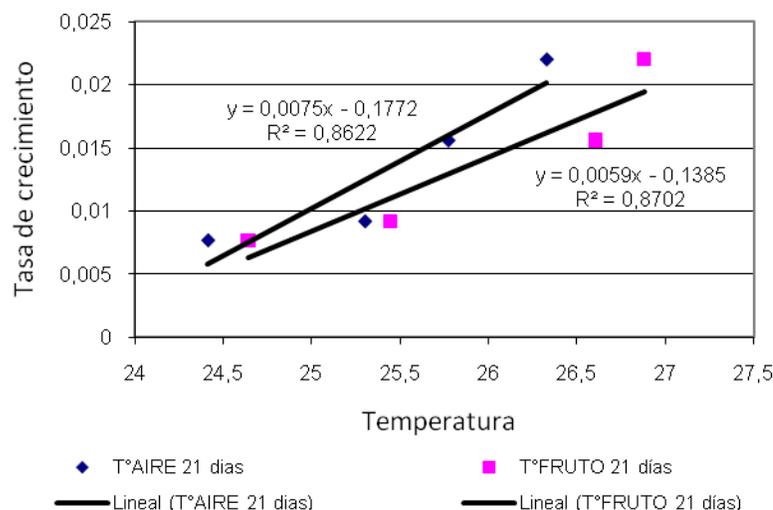


Figura 22. Regresión lineal entre las tasas de crecimiento y la temperatura promedio de los primeros 21 días.

En ambos casos la relación fue positiva, o sea que, a mayores temperaturas, mayores tasas de crecimiento.

El Cuadro 10 resume el análisis de regresión realizado entre las variables climáticas y las tasas de crecimiento de las generaciones.

Cuadro 10. Valores de  $r$  y  $p$  de las regresiones lineales entre las tasas de crecimiento y los factores microclimáticos.

Factor	7 Días		21 Días	
	Coefficiente de Regresión “r”	p-valor	Coefficiente de Regresión “r”	p-valor
Temperatura del aire	0,75	0,25	<b>0,93</b>	<b>0,07*</b>
Temperatura del fruto	0,82	0,18	<b>0,93</b>	<b>0,07*</b>
Mojadura del fruto	-0,12	0,88	-0,67	0,33
Humedad relativa	0,14	0,86	0,08	0,92

\*  $p < 0,1$

Con un 90% de confianza se concluyó que solamente la temperatura del aire y del fruto tiene relación con las tasas de crecimiento de las curvas. Además, en este cuadro se observa que las relaciones mejoran conforme avanzan los días (mejores relaciones a los 21 días).

#### ***4.5.1 Caracterización del microclima de los primeros 21 días de cada generación de frutos***

Como ya se mencionó, el microclima de las primeras tres semanas mostró tener una relación directa con las diferentes tasas de crecimiento, de ahí que es importante su caracterización. Como se observa en la Figura 14, en las primeras tres semanas del ensayo (evaluación 2) las curvas han alcanzado más del 50 % de recorrido hasta su punto máximo de enfermedad. Para las enfermedades monocíclicas el período de infección inicial es determinante.

##### **4.5.1.1 Temperatura del aire promedio de los primeros 21 días de infección por generación**

En la Figura 23 se puede observar que las temperaturas de las Generación 1, principalmente en las horas de temperatura máxima del día (9:00 am a 4:00 pm) son muy diferentes a las temperaturas del resto de las generaciones.

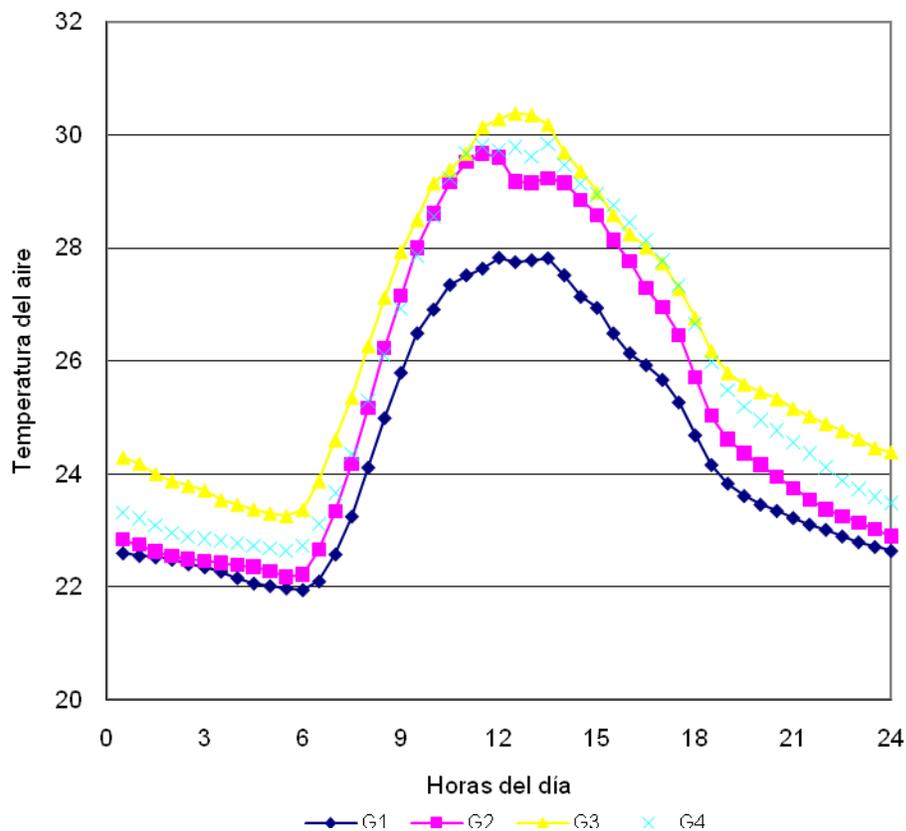


Figura 23. Comportamiento de la temperatura del aire (2 sensores) por generación, durante los primeros 21 días de evaluación.

Alrededor del mediodía día es posible apreciar las mayores diferencias de temperaturas entre las generaciones. Para comprobar lo anterior se construyó el siguiente cuadro:

Cuadro 11. Comparación de la temperatura del aire diaria y a las 12:00md (promedios y error estándar) durante los primeros 21 días de infección para cada generación de frutos.

Hora	Generación	Temperatura aire
Promedio diario	1	24,41 ± 0,07
	2	25,29 ± 0,07
	3	26,34 ± 0,07
	4	25,94 ± 0,07
12:00 md	1	27,82 ± 0,50
	2	29,60 ± 0,37
	3	30,29 ± 0,36
	4	29,73 ± 0,29

Con el Cuadro 11 se observa que las temperaturas promedio diarias de las cuatro generaciones presentan diferencias significativas. También, se comprueba que efectivamente la Generación 1 es diferente estadísticamente (errores estándar) en cuanto a la temperatura de los primeros 21 días que las temperaturas de las demás generaciones. Las Generaciones 2, 3 y 4 no presentan diferencias significativas entre ellas en este rubro, pero sí son diferentes significativamente a la Generación 1.

#### 4.5.1.2 Temperatura del fruto promedio de los primeros 21 días de infección por generación

Las temperaturas de los frutos de los primeros 21 días para la Generación 1, principalmente en las horas de temperatura máxima del día (9:00 am a 4:00 pm) son bastante diferentes a las temperaturas del resto de las generaciones. Para este caso, la curva de la Generación 2 también presenta algunas diferencias más hacia el medio día y la tarde.

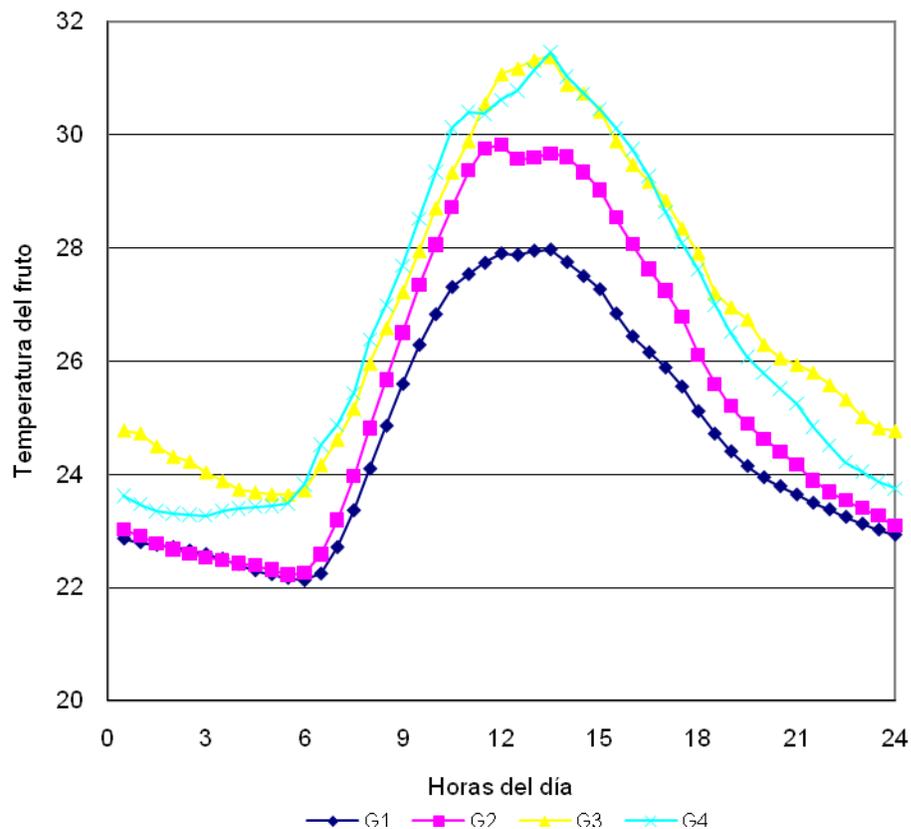


Figura 24. Comportamiento de la temperatura del fruto (6 sensores) por generación, durante los primeros 21 días de evaluación.

En horas de la madrugada y al inicio de la mañana (12:00 am a 6:00 am) las temperaturas de las Generación 1 y 2 son prácticamente iguales entre ellas, pero muy distintas a las de las Generaciones 3 y 4. Estas últimas 2 generaciones, en ese mismo período son diferentes entre sí hasta las 3:00 am–4:00 am. En horas de la tarde y noche se evidencia otra vez diferencias entre las 4 curvas. Sin embargo, alrededor del mediodía día es aprecian las mayores diferencias de temperaturas entre las generaciones. Para comprobar lo anterior se construyó el siguiente cuadro:

*Cuadro 12. Comparación de la temperatura del fruto a las 12:00md (promedios y error estándar) durante los primeros 21 días de infección para cada generación de frutos.*

<b>Hora</b>	<b>Generación</b>	<b>Temperatura fruto</b>
12:00 md	1	27,91 ± 0,52
	2	29,82 ± 0,43
	3	31,08 ± 0,50
	4	30,61 ± 0,43

Como se observa en el Cuadro 12, la temperatura del fruto al mediodía de la Generación 1 presenta diferencias significativas con respecto a los 3 curvas restantes. La temperatura del fruto de la Generación 2 también es diferente estadísticamente a la temperatura del fruto de la Generación 3, pero no presenta diferencias significativas con respecto a la temperatura del fruto de la Generación 4. Esta última tampoco es diferente a la temperatura del fruto de la Generación 3.

#### **4.5.1.3 Mojadura del fruto promedio de los primeros 21 días de infección por generación**

Con relación a la mojadura del fruto (Figura 25) se observó que los cambios a través del día de esta variable son más intensos que los cambios a través del día del resto de las variables microclimáticas registradas. Debido a esta variabilidad, es difícil determinar los momentos donde las generaciones presentan diferencias a través del día con sólo observar la Figura 25. Sin embargo en esta figura, el mediodía sigue siendo el punto donde se detectan más claramente las diferencias de mojadura del fruto entre las cuatro generaciones. De igual

manera que con las variables anteriores, se calcularon los errores estándar de los valores de frecuencia de mojadura del fruto para las 12:00md y se presentan en el Cuadro 13 junto con los valores promedios.

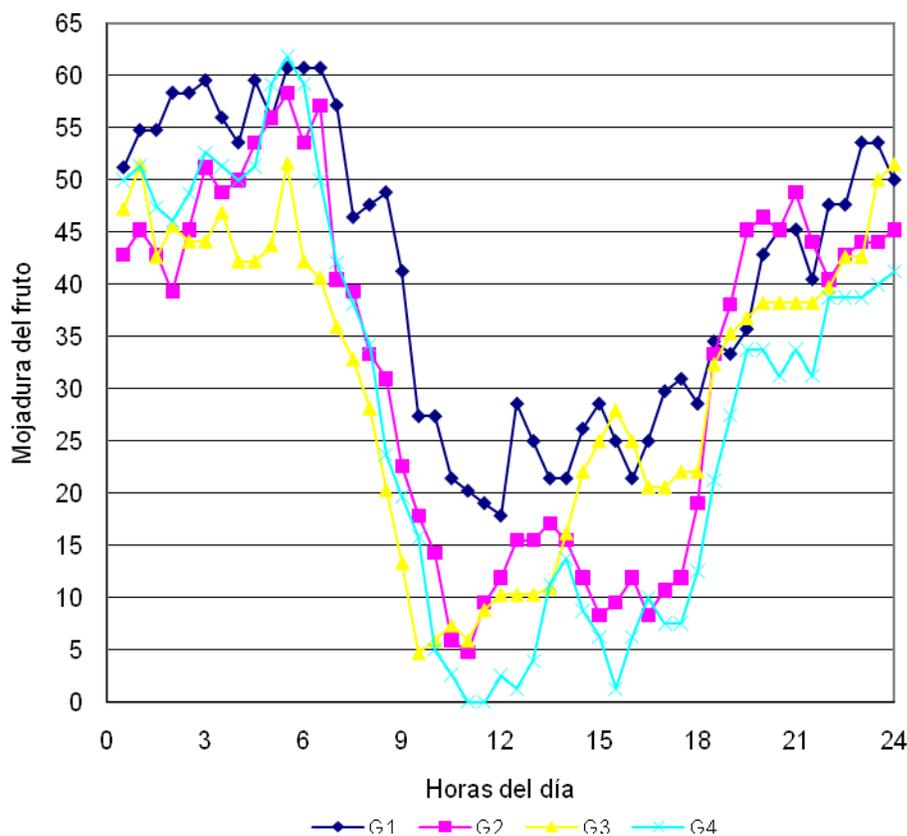


Figura 25. Comportamiento de la mojadura del fruto (4 sensores) por generación, durante los primeros 21 días de evaluación.

Es importante señalar que, como se puede apreciar en la figura anterior, en el período que comprende entre las 9:00 am y las 4:00 pm se presentan los valores más bajos de mojadura de fruto, contrario a lo observado para las otras variables (Figuras 23 y 24).

*Cuadro 13. Comparación de la mojadura del fruto a las 12:00md (promedios y error estándar) durante los primeros 21 días de infección para cada generación de frutos.*

<b>Hora</b>	<b>Generación</b>	<b>Mojadura fruto</b>
12:00 md	1	17,86 ± 5,06
	2	11,90 ± 4,45
	3	10,29 ± 4,62
	4	2,5 ± 2,5

Según el cuadro anterior, solamente la Generación 4 posee valores de mojadura del fruto diferentes significativamente a los valores de las otras generaciones. Los valores de frecuencia de la mojadura del fruto de las Generaciones 1, 2, y 3 no son diferentes estadísticamente.

#### **4.5.1.4 Humedad relativa promedio de los primeros 21 días de infección por generación**

En la Figura 26 se observa la evolución de la humedad relativa durante el día. Se evidencia que al igual que la mojadura del fruto (Figura 25) y contrario a la temperatura del aire y del fruto (Figuras 23 y 24), el período de mínimos valores de humedad relativa es de 9:00 am a 4:00 pm, período en el cual se evidencian algunas diferencias entre los valores de las diferentes generaciones. En el resto del día (primeras horas de la mañana, la tarde y la noche), no existen diferencias entre los valores de humedad relativa de las diferentes generaciones. Antes de las 7:00 am y después de las 6:00 pm la humedad relativa alcanza valores iguales o superiores al 95%.

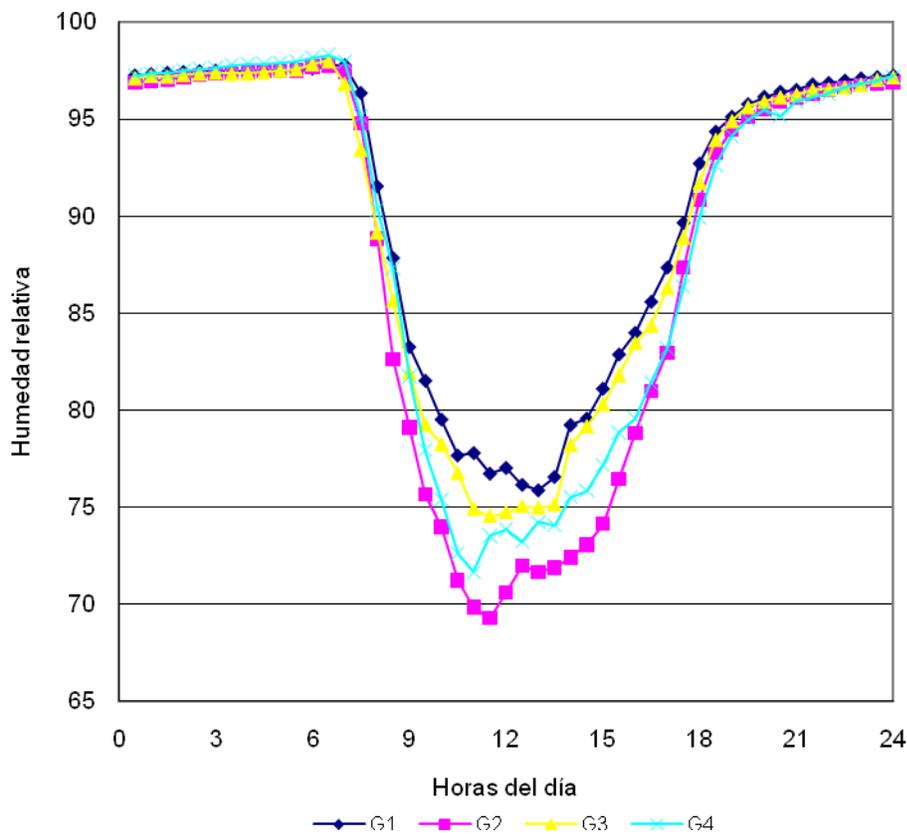


Figura 26. Comportamiento de la humedad relativa (2 sensores) por generación, durante los primeros 21 días de evaluación.

El Cuadro 14 contiene los valores promedio de humedad relativa por generación a las 12:00 am, hora en que se evidencian las mayores diferencias de humedad relativa entre generaciones.

Cuadro 14. Comparación de la humedad relativa a las 12:00md (promedios y error estándar) durante los primeros 21 días de infección para cada generación de frutos.

Hora	Generación	Humedad relativa
12:00 md	1	77,03 ± 2,19
	2	70,61 ± 1,97
	3	74,73 ± 1,69
	4	73,84 ± 1,37

De acuerdo con los errores estándar del Cuadro 14, la Generación 1 es diferente estadísticamente a la Generación 2 en cuanto a los valores de humedad relativa al mediodía. A la vez, la Generación 2 presenta diferencias significativas con respecto a la Generación 3. La Generación no presenta diferencias con ninguna de las otras generaciones.

#### ***4.5.2 Caracterización del microclima de las parcelas de sol y sombra bajo tres condiciones de lluvia (sin lluvia, <5 mm, >5 mm)***

Con el fin de conocer las diferencias entre los factores microclimáticos reportados por las estaciones Campbell colocadas en ambas parcelas, a continuación se presentan los datos recolectados y su comparación estadística.

##### **4.5.2.1 Temperatura del aire en las parcelas de sol y sombra durante el período de agosto a setiembre del 2010**

Se caracterizó la evolución de la temperatura del aire a través del día en las parcelas de sol y sombra bajo tres condiciones de lluvia: días sin lluvia, con lluvias menores a 5 mm y con lluvias mayores a 5 mm.

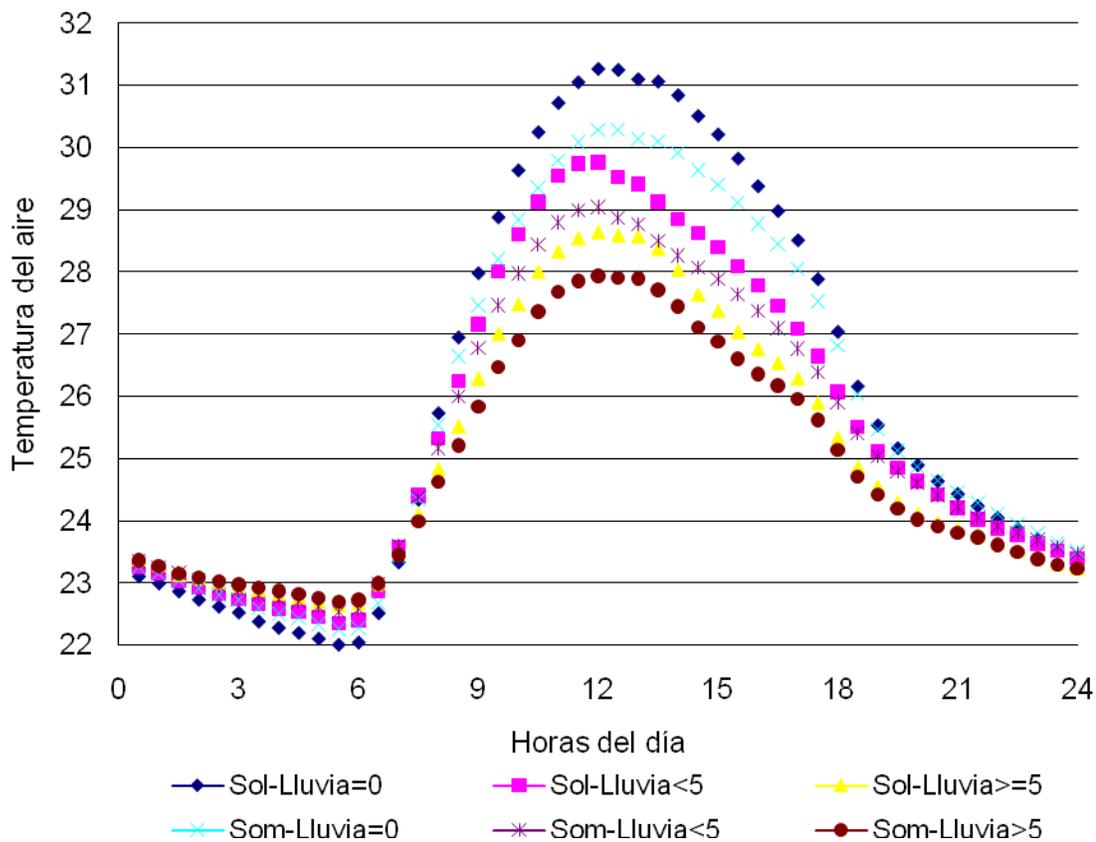


Figura 27. Comportamiento de la temperatura del aire (2 sensores) en días sin lluvia y con lluvias (<5mm y >5mm) en las parcelas de sol y sombra, durante el período de marzo a setiembre del 2010.

Durante el período de temperaturas máximas en el transcurso del día (9:00 am a 4:00 pm), bajo las tres condiciones de lluvia se registraron mayores promedios de temperatura del aire en la parcela más expuesta al sol, sin embargo, en el resto de la tarde, la noche e inicio de la mañana (temperaturas mínimas) no se observan diferencias entre las parcelas de sol y sombra. Además, en ambas parcelas durante todo el período registrado, es claro que a menor lluvia, mayores temperaturas alcanzadas.

En el Cuadro 15 se observan mejor las diferencias de temperatura entre la parcela de sol y la de sombra al mediodía, con sus respectivos errores estándar. A esta hora, de acuerdo con la Figura 27, se observan las mayores diferencias en temperatura del aire entre parcelas y entre los días con diferentes categorías de lluvia.

*Cuadro 15. Comparación de la temperatura del aire a las 12:00md (promedios y error estándar) en el período de estudio bajo tres categorías de lluvia y dos condiciones de exposición solar.*

<b>Hora</b>	<b>Parcela</b>	<b>Categoría</b>	<b>Temperatura aire</b>
12:00 md	Sol	Sin lluvia	31,27 ± 0,21
		<5mm	29,77 ± 0,32
		>5mm	28,64 ± 0,39
12:00 md	Sombra	Sin lluvia	30,29 ± 0,18
		<5mm	29,05 ± 0,29
		>5mm	27,94 ± 0,35

Al observar los valores de error estándar es claro que las temperaturas entre categorías de lluvia son diferentes significativamente. También existen diferencias entre las parcela de sol y la de sombra en las categorías de menos lluvia (sin lluvia y < 5 mm), sin embargo en la categoría de más de 5 mm de lluvia existen un pequeño traslape de los errores estándar de cada promedio.

#### **4.5.2.2 Temperatura del fruto de cacao en las parcelas de sol y sombra durante el período de agosto a setiembre del 2010**

Se caracterizó la evolución de la temperatura de la mazorca a través del día en las parcelas de sol y sombra bajo tres condiciones de lluvia: días sin lluvia, con lluvias menores a 5 mm y con lluvias mayores a 5 mm.

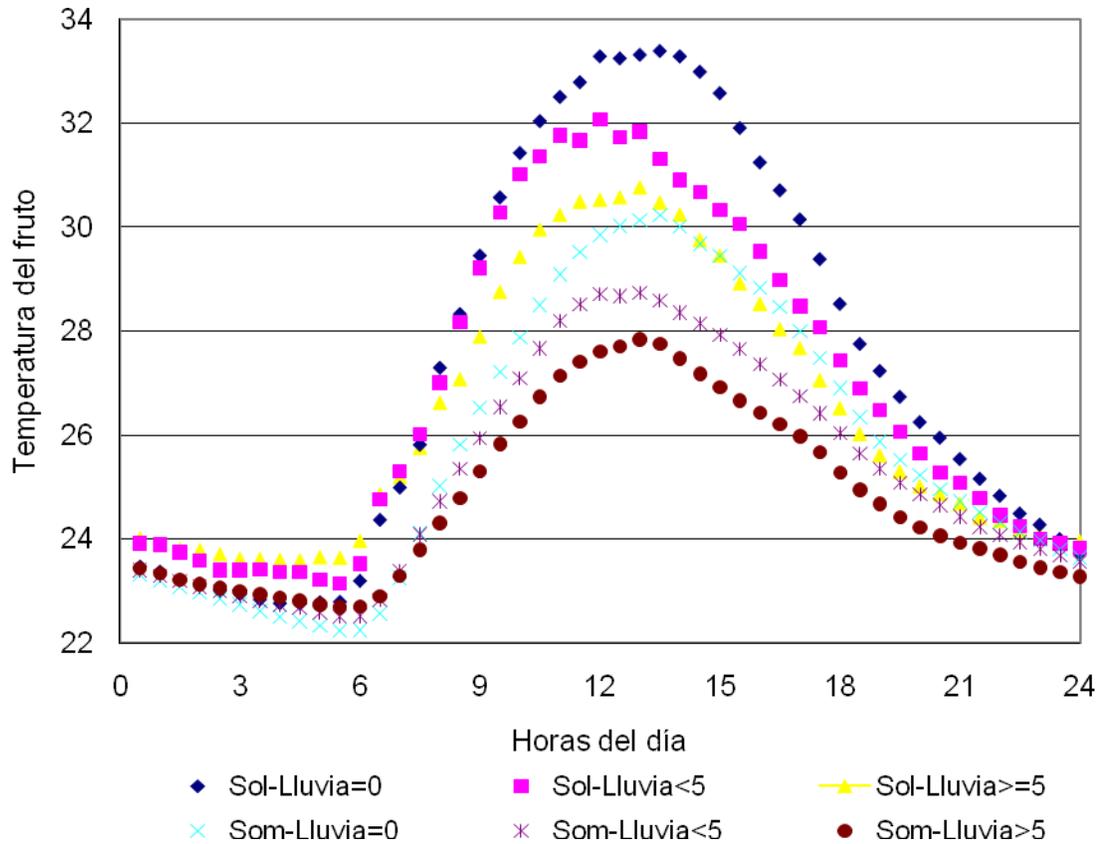


Figura 28. Comportamiento de la temperatura del fruto de cacao (6 sensores) en días sin lluvia y con lluvias (<5mm y >5mm) en las parcelas de sol y sombra, durante el período de marzo a setiembre del 2010.

Entre las 9:00 am a 4:00 pm (temperaturas máximas en el día), bajo las tres condiciones de lluvia se registraron mayores promedios de temperatura del fruto en la parcela más expuesta al sol, sin embargo, en el resto de la tarde, la noche e inicio de la mañana (temperaturas mínimas) no se observan diferencias entre las parcelas de sol y sombra. También, tanto en la parcela de sol como en la de sombra, los frutos alcanzan mayores temperaturas en los días sin y con menos lluvia.

Comparando la Figura 28 con la Figura 27 se observa que los frutos alcanzan mayores temperaturas que el aire en la parcela de sol, en los días con menos lluvia (sin lluvia y <5mm), sin embargo esto no ocurre a la sombra. Esto queda más claro al observar el Cuadro 16, que contiene las diferencias de temperatura entre la parcela de sol y la de sombra al mediodía, con sus respectivos errores estándar, y compararlo con el Cuadro 12.

*Cuadro 16. Comparación de la temperatura de la mazorca a las 12:00md (promedios y error estándar) en el período de estudio bajo tres categorías de lluvia y dos condiciones de exposición solar.*

<b>Hora</b>	<b>Parcela</b>	<b>Categoría</b>	<b>Temperatura fruto</b>
12:00 md	Sol	Sin lluvia	33,30 ± 1,07
		<5mm	32,07 ± 1,37
		>5mm	30,53 ± 1,75
12:00 md	Sombra	Sin lluvia	29,86 ± 0,94
		<5mm	28,71 ± 1,29
		>5mm	27,60 ± 1,57

En este cuadro se evidencia que las temperaturas del fruto entre categorías de lluvia no presentan diferencias significativas (cálculo de errores estándar). Sin embargo, sí existen diferencias significativas entre las parcela de sol y la de sombra en las categorías de menos lluvia (sin lluvia y < 5 mm), pero en la categoría de más de 5 mm de lluvia los errores estándar de cada promedio se sobreponen. Con relación a la temperatura del órgano, las diferencias entre parcelas se acentúan.

#### **4.5.2.3 Frecuencia de la mojadura del fruto de cacao en las parcelas de sol y sombra durante el período de agosto a setiembre del 2010**

La evolución de la mojadura de la mazorca a través del día fue caracterizada en las parcelas de sol y sombra bajo tres condiciones de lluvia: días sin lluvia, con lluvias menores a 5 mm y con lluvias mayores a 5 mm.

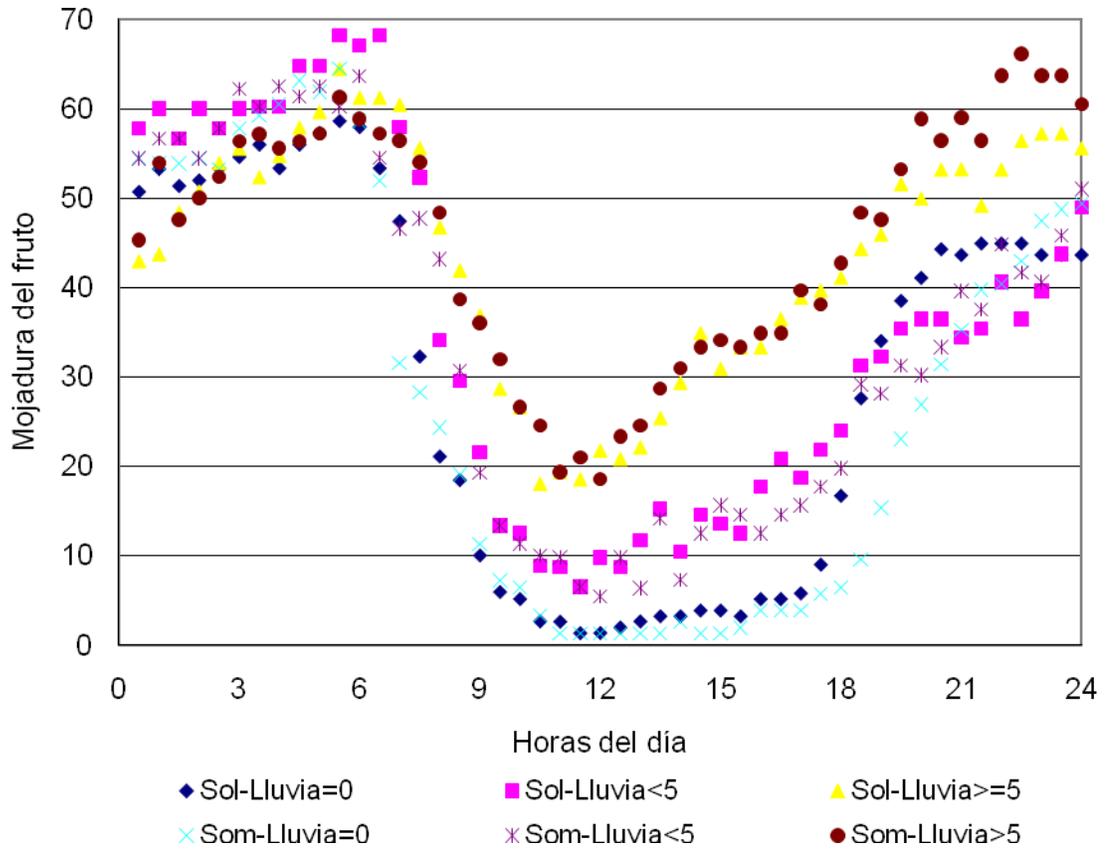


Figura 29. Comportamiento de la frecuencia de la mojadura del fruto de cacao (4 sensores) en días sin lluvia y con lluvias (<5mm y >5mm) en las parcelas de sol y sombra, durante el período de marzo a setiembre del 2010.

En la Figura 29 es claro que el agrupamiento de los datos se da por las categorías de lluvia, de ahí que no se ven diferencias marcadas entre la parcela de sol y la parcela de sombra.

Contrario a las figuras de temperatura del aire y del fruto (27 y 28), en las temperaturas máximas en el día (9:00 am a 4:00 pm) se presentaron los valores más bajos de la frecuencia de mojadura de las mazorcas. Además, en ese mismo período fue más clara la diferenciación de los datos de acuerdo a las categorías de lluvia. Ya en el resto de la tarde, la noche e inicio de la mañana (temperaturas mínimas) no se observan diferencias entre las parcelas de sol y sombra ni entre las categorías.

El cuadro a continuación presenta las frecuencias de mojadura de la mazorca entre las categorías de lluvia, con sus respectivos errores estándar:

*Cuadro 17. Comparación de la frecuencia de la mojadura de la mazorca a las 12:00md (promedios y error estándar) en el período de estudio bajo tres categorías de lluvia y dos condiciones de exposición solar.*

<b>Hora</b>	<b>Parcela</b>	<b>Categoría</b>	<b>Frecuencia mojadura fruto</b>
12:00 md	Sol	Sin lluvia	1,33 ± 0,93
		<5mm	9,78 ± 3,34
		>5mm	21,77 ± 4,92
12:00 md	Sombra	Sin lluvia	1,33 ± 0,93
		<5mm	5,43 ± 2,32
		>5mm	18,55 ± 4,30

Según el Cuadro 17, existen diferencias significativas entre las categorías de lluvia dentro de cada una de las parcelas. Las frecuencias en la categoría sin lluvia no presentan ninguna diferencia entre la parcela de sol y la de sombra. En las otras dos categorías de lluvia (<5mm y >5mm) las frecuencias de mojadura de fruto tampoco no son diferentes significativamente entre ambas parcelas.

#### **4.5.2.4 Humedad relativa en las parcelas de sol y sombra durante el período de agosto a setiembre del 2010**

Se describió la evolución de la humedad relativa a través del día en las parcelas de sol y sombra bajo tres condiciones de lluvia: días sin lluvia, con lluvias menores a 5 mm y con lluvias mayores a 5 mm.

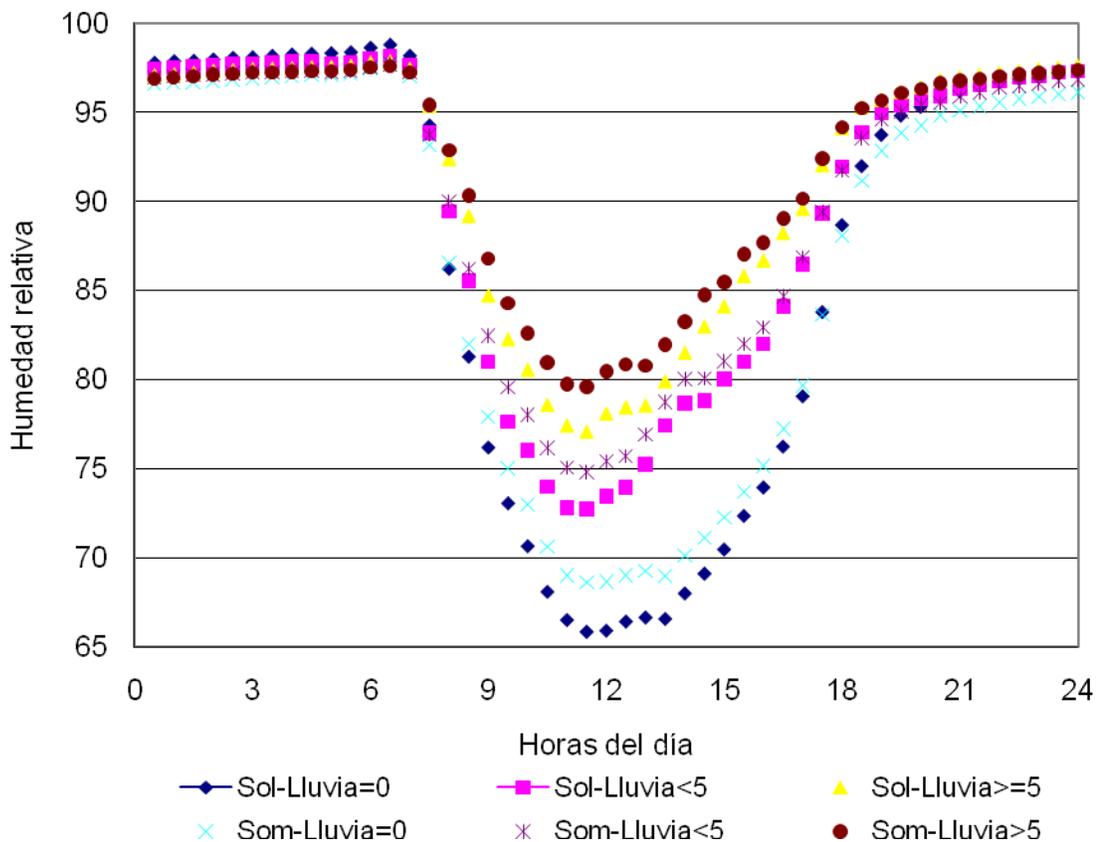


Figura 30. Comportamiento de la humedad relativa (42 sensores) en días sin lluvia y con lluvias (<5mm y >5mm) en las parcelas de sol y sombra, durante el período de marzo a setiembre del 2010.

Al igual que con la mojadura del fruto (Figura 29) y contrario a las temperaturas del aire y del fruto (Figuras 27 y 28), en el período donde se dan los valores menores de humedad relativa es entre las 9:00 am y las 4:00 pm. Ahí se denotan entre la parcela de sol y la de sombra y entre las categorías de lluvia. Entre las 6:00 pm y las 7:00 am los valores de humedad relativa en general casi se igualan y son superiores al 95%.

Al igual que con la mojadura del fruto el agrupamiento de los datos es por las categorías de lluvia, y no por el tipo de parcela.

El Cuadro 18 contiene los promedios de humedad relativa a las 12:00md por parcela y categoría de lluvia, con sus respectivos errores estándar:

*Cuadro 18. Comparación de la humedad relativa a las 12:00md (promedios y error estándar) en el período de estudio bajo tres categorías de lluvia y dos condiciones de exposición solar.*

<b>Hora</b>	<b>Parcela</b>	<b>Categoría</b>	<b>Humedad relativa</b>
12:00 md	Sol	Sin lluvia	65,91 ± 0,27
		<5mm	73,45 ± 0,42
		>5mm	78,12 ± 0,46
12:00 md	Sombra	Sin lluvia	68,66 ± 0,19
		<5mm	75,41 ± 0,29
		>5mm	80,45 ± 0,33

En este cuadro se aprecia que existen diferencias significativas entre los valores de humedad relativa de cada una de las parcelas. También las categorías de lluvia dentro de cada una de las parcelas son diferentes significativamente.

#### **4.6 Captura de esporas mediante trampa Burkard**

Para esta sección se contabilizaron las esporas capturadas en los últimos siete días de las tres categorías de lluvia, para un total de 21 días de captura. Una vez realizados los conteos y aplicada la fórmula para obtener la cantidad de esporas por m<sup>3</sup> de aire a través del día se obtuvieron los siguientes resultados:

En la Figura 31 se aprecia el comportamiento de las esporas de monilia a través del día. Es claro que durante el día se capturan muy pocas (o no se capturan) esporas dentro de la parcela de cacao. Ya en horas de la tarde/noche y en la mañana (5:00 pm a 7:00 am) las capturas incrementan, alcanzando un punto máximo de capturas alrededor de las 9:00 pm.

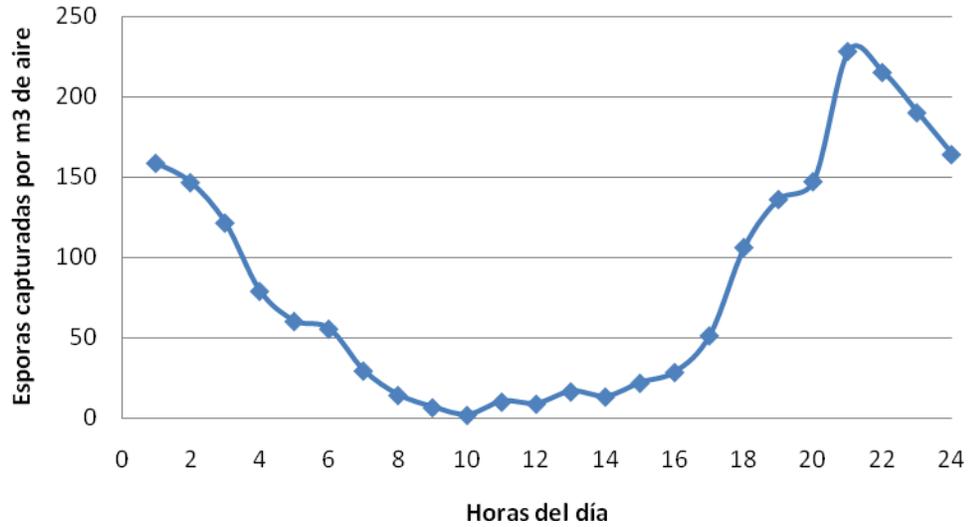


Figura 31. Comportamiento de las capturas de esporas totales de *M. roleri* a través del día.

Como se mencionó en la metodología, los tipos de esporas fueron diferenciados. En la Figura 32 se muestra que las esporas de forma globosa se capturan en mayor proporción, y son las que demarcan la tendencia explicada en el párrafo anterior. Las esporas elípticas y amorfas se capturan en cantidades muy bajas durante todo el día, sin embargo, como se observan en la Figura 33, estos tipos de esporas mantienen la misma tendencia de captura que las esporas globosas.

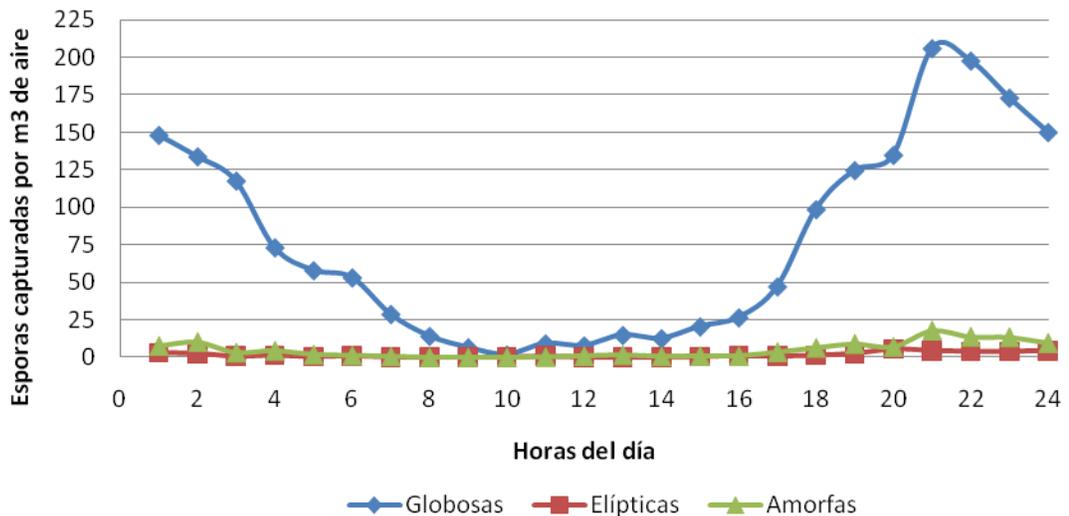


Figura 32. Comportamiento de las capturas de esporas de *M. roleri* a través del día por tipo.

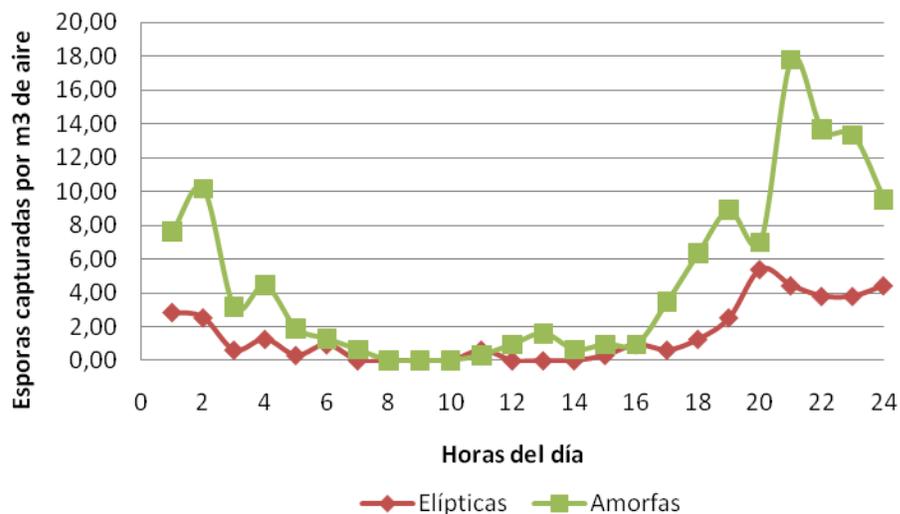


Figura 33. Comportamiento de las capturas de esporas (elípticas y globosas) de *M. roreri* a través del día.

En el siguiente cuadro se detallan los promedios de capturas por tipo de espora y sus respectivos errores estándar.

Cuadro 19. Capturas de esporas por m<sup>3</sup> de aire a través del día al final del período de estudio según su tipo.

Tipo de espora	Total diario promedio
Globosa	1861,28 ± 13,70
Elíptica	36,81 ± 0,35
Amorfa	114,57 ± 1,05

A partir del Cuadro 19 se concluye que existen diferencias significativas entre las capturas de los diferentes tipos de esporas. Las esporas de forma elíptica son las que menos se capturaron.

Las capturas totales de esporas del hongo también se categorizaron por días de lluvia. La Figura 34 muestra la tendencia de captura en las tres categorías de lluvia. Existe evidencia que en los días sin lluvia se capturan más esporas durante los picos de captura nocturnos. En las otras dos categorías de lluvia (< 5 mm y > 5 mm) las capturas son similares.

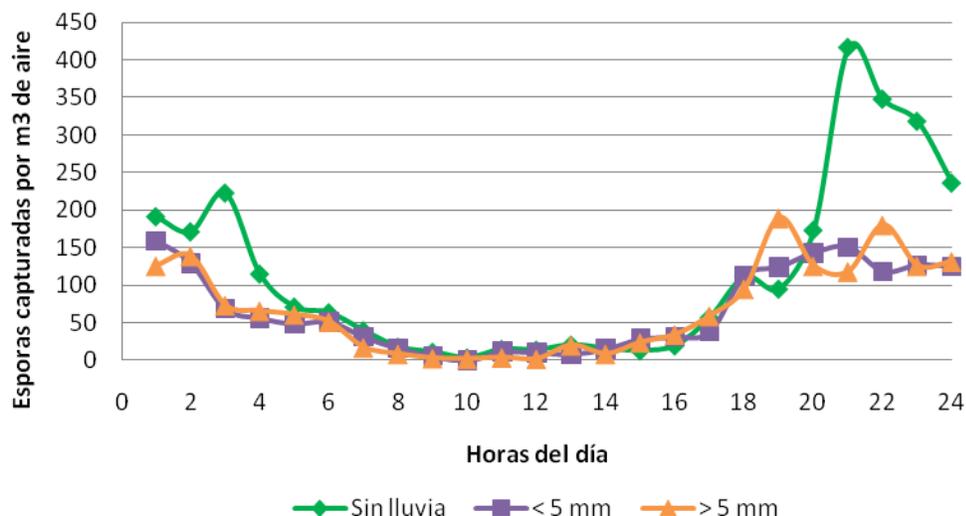


Figura 34. Comportamiento de las capturas de esporas de *M. royeri* a través del día por categoría de lluvia.

Para conocer si existen diferencias significativas entre las capturas en las categorías de lluvia, se elaboró el Cuadro 20.

Cuadro 20. Capturas de esporas por m<sup>3</sup> de aire a través del día al final del período de estudio bajo tres categorías de lluvia.

Categoría lluvia	Total diario promedio
Sin lluvia	2764,78 ± 24,42
< 5 mm	1609,54 ± 11,15
> 5 mm	1663,81 ± 12,20

En el Cuadro 20 se observa que la cantidad de esporas capturadas en los días sin lluvia es diferente significativamente a las cantidades capturadas en las otras dos categorías de lluvia (< 5 mm y > 5 mm). Entre estas últimas dos categorías de lluvia no existen diferencias significativas en cuanto a captura de esporas totales.

## 5 DISCUSIÓN

### 5.1 La moniliasis: una enfermedad monocíclica

De acuerdo a los cálculos de las tasas de crecimiento aparente de cada curva y su respectiva linealización se evidencia que cada curva de infección corresponde a monociclos independientes, lo que significaría que la moniliasis no es una enfermedad policíclica o una epidemia, sino que una enfermedad monocíclica (Zadoks y Schein 1979). De aceptarse este resultado, se comprendería mejor el desarrollo epidemiológico de la enfermedad, y se podrían elaborar estrategias de combate que tomen este conocimiento como base.

De aceptarse la moniliasis como una enfermedad monocíclica se tendría consecuencias directas sobre el manejo del cultivo, y se reafirmaría la importancia de eliminar el inóculo inicial antes del surgimiento de la floración. También se recomendaría agrupar las generaciones de frutos, ya sea por medio de clones que tengan floraciones agrupadas y separadas entre sí o mediante inducción de floración. La multiplicación de generaciones favorece la incidencia de la enfermedad (forma sigmoide).

Como fundamentos de que la moniliasis es una enfermedad monocíclica está el hecho de que las mazorcas de cacao son más susceptibles durante los primeros meses de edad de las mazorcas (Ampuero 1967) y que el período de incubación es relativamente largo en comparación con organismos como *Phytophthora* en donde es menor a una semana. La propagación de la enfermedad a través del tiempo es facilitada por la capacidad del cacao de producir varios ciclos de generación de mazorcas en un corto período como lo demuestra la Figura 19.

#### 5.1.1 Factores que afectan el monociclo y la pseudo epidemia

Existen algunos factores que pueden causar la ilusión de epidemia de la moniliasis, entre ellos está la carga fructífera, temperatura, sombra, material genético y los factores que afectan la dispersión de las esporas del hongo.

#### **5.1.1.1 Material genético**

Según la jerarquización de variables presentada en el árbol de regresión que incluye todas las variables disponibles, la variable “clon” resultó ser la más explicativa, es decir que posee el mayor poder de explicar a la variable de respuesta (porcentaje de mazorcas enfermas), demostrándose así el potencial del componente genético para controlar la enfermedad (Arciniegas 2005).

Se observa también que para los grupos muy resistentes, los cuales incluyen los materiales como CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6, el potencial de resistencia se mantiene bien a través de los años a pesar de las variaciones de clima, lo que indica que la resistencia acumulada en estos materiales es muy estable. Sin embargo, también se observan variaciones fuertes de resistencia en los clones menos resistentes como CATIE-1000, Pound-7, SCA-6 y SCA-12 lo cual es esperado cuando se trata de resistencia de tipo incompleto (Phillips-Mora 1996).

#### **5.1.1.2 Carga fructífera**

De acuerdo con los resultados de esta investigación, la carga fructífera de los árboles de cacao presenta una relación positiva con la incidencia de la moniliasis sobre los mismos. Se piensa que esto está en relación con la fenología del cacao. Cuando una planta de cacao está en producción, generalmente se encuentran en ella frutos de diferentes tamaños, o sea de diferentes generaciones, por lo que hay una mayor disponibilidad de material susceptible durante todo el período productivo que permite el contagio entre las diferentes mazorcas de diferentes generaciones por contacto o cercanía (Porras y González 1982).

#### **5.1.1.3 Temperatura del aire y del fruto**

Los cambios que se observaron entre las tasas de crecimiento de las diferentes generaciones se explican con la variación de la temperatura entre las mismas, principalmente las temperaturas de los primeros 21 días. Schmitz (1985) señala que la temperatura es una variable muy determinante tanto en la dispersión como en la germinación de esporas de *M. roleri*.

Muchos autores han determinado la temperatura óptima para la esporulación y la germinación de *M. royeri* en diferentes lugares del continente bajo condiciones *in vitro*, dicha temperatura se encuentra entre los 24-28°C (López 1954, Chacín 1975, Pérez y Posada 1978, Campuzano 1981, Merchán 1981, Evans 1981, Phillips y Galindo 1985, Ram *et al* 1987, y Herrera 1988). Las temperaturas promedio diarias de los primeros 21 días de las cuatro generaciones de mazorcas estuvieron dentro de este rango, sin embargo, para las Generaciones 3 y 4 (mayores tasas de crecimiento diario de la enfermedad) este valor estuvo muy cercano a los 26°C, lo que puede indicar que en el campo el intervalo puede reducirse a 25-27°C, similar a los valores *in vitro* que se reportan en Venezuela y Ecuador por Chacín (1975) y Evans (1981) respectivamente.

Con respecto a las temperaturas del fruto, estas fueron superiores a las temperaturas del aire debido a la absorción del calor por conducción que eleva la temperatura del órgano sobre la temperatura del aire (Schroeder 1963). Son más determinantes en la germinación de las esporas ya que es sobre el órgano que estas deben germinar para poder penetrar los tejidos y generar una infección. De acuerdo con los valores de temperatura del fruto que se reportaron para las Generaciones 3 y 4 se puede afirmar que temperaturas del órgano más elevadas (siempre dentro del rango óptimo) favorecen la germinación de las esporas, si existe una película de agua disponible (Campuzano 1981, Merchán 1981).

El considerar la temperatura promedio de 21 días probablemente no sea suficiente. Se sugiere considerar otras variables como la amplitud de las temperaturas diarias, o las temperaturas máximas y mínimas. Condiciones con temperaturas extremas posiblemente sean más desfavorables para la moniliasis que condiciones con temperaturas poco variables.

#### **5.1.1.4 Sombra**

Además de la precipitación, se observó que el nivel de sombra de las parcelas afecta la temperatura del aire y de los frutos en los árboles de cacao reduciendo las amplitudes diarias, lo que confirma observaciones anteriores (Meléndez 1993).

La sombra solamente tuvo efecto en el sector más cercano al tronco de la planta, quizás porque es la parte de la planta donde puede pasar la mayor cantidad de radiación directa. Sin embargo, la sombra explica un porcentaje muy pequeño de la incidencia de la moniliasis. Además, el análisis permitió concluir que a mayor sombra mayor infección de frutos, debido a las condiciones de microclima favorable para el hongo que se genera con la sombra (Meléndez 1993).

En el ensayo se encontraron diferencias de temperatura del aire y del fruto entre la parcela soleada y la expuesta al sol, las cuales reafirman que la sombra altera la temperatura. Además se evidenció que, en los rangos estudiados, la sombra no limita la entrada de lluvia hasta los frutos o la depositación de rocío sobre los mismos, ya que entre las parcelas anteriormente mencionadas no existen diferencias en la mojadura del fruto. Por último, la sombra incrementó la humedad relativa. Esto corresponde con lo reportado por Meléndez (1993).

#### **5.1.1.5 Factores que afectan la dispersión de esporas**

Schmitz (1985) señala que en la zona Atlántica de Costa Rica los cambios de humedad y temperatura afectan directamente la dispersión y la germinación de las esporas de *M. roleri*, respectivamente.

Las esporas de *M. roleri* son de liberación pasiva, o dependiente del viento (Porras 1982). Este tipo de esporas se encuentra en mayores concentraciones en la atmósfera durante el día, alcanzando su máximo poco después del mediodía (Aylor, 1990). A esa hora del día las temperaturas son más elevadas, hay menos humedad relativa y los frutos están secos, además las corrientes de aire son más fuertes.

Sin embargo, en el ensayo se observa que casi no se capturaron esporas en las horas del día y que la mayor cantidad de esporas se observa en la noche. Esto se puede deber a que durante el día la temperatura alcanza valores muy altos, provocando corrientes de convección que bajan la humedad relativa del cacaotal y suben la nube de esporas liberadas y residuales. Este comportamiento podría explicar las observaciones de Meléndez (1993) que encontró en

forma permanente una nube de esporas por encima de los árboles de cacao bajo sombra. En la noche, cuando la humedad relativa aumenta, posiblemente las esporas absorban humedad, ganen peso y descendan hasta los frutos, momento en que se capturaron.

Con respecto al tipo de esporas, es evidente que las esporas esféricas son las más abundantes, tal y como lo reporta Phillips-Mora (2003) para las cepas de la región Atlántica de Costa Rica, sin embargo, en este ensayo se capturaron una mayor cantidad de esporas amorfas que esporas elípticas, aunque en cantidades muy pequeñas, lo que es contrario a lo que reporta el mismo autor trabajando bajo condiciones *in vitro*.

Por último, es claro que en los días sin lluvia se capturan más esporas que en los días que llueve poco o mucho. Es posible que con la lluvia las esporas residuales descendan hasta el suelo y el resto quede adherido a los frutos esporulando. Además, las trampas Burkard están diseñadas para absorber esporas en seco.

La cantidad de esporas en el aire y su dispersión también ayudan a explicar las diferencias en cuanto a las tasas de crecimiento de la enfermedad en las distintas generaciones, ya que las últimas generaciones (3 y 4) estuvieron expuestas a una concentración mayor de inóculo residual, debido a que las mazorcas enfermas no fueron removidas una vez que se inició el experimento (Porrás y González 1982).

## **5.2 Desarrollo sintomatológico**

Se observaron diferencias marcadas entre las cuatro generaciones de mazorcas con respecto a la secuencia de aparición de los síntomas de la moniliasis y a su porcentaje de aparición. De acuerdo a lo señalado por Parra y Sánchez (2005), la manifestación de los síntomas de esta enfermedad varía de acuerdo con la edad del fruto, las condiciones ambientales y la susceptibilidad de la planta. Como este ensayo se llevó a cabo solamente evaluando un clon altamente susceptible, este último punto no se va a tomar en cuenta para la explicación de la variación sintomatológica entre las generaciones.

El primer síntoma en aparecer en todas las generaciones fue la giba, contrario a lo señalado por Merchán (1981), quien indica que los puntos aceitosos aparecen como primer síntoma. Estas diferencias recaen en que las deformaciones o gibas son más evidentes cuando la infección se da en frutos menores de dos meses (Campuzano 1981). De acuerdo con lo observado en esta investigación este síntoma siempre aparece, aunque a veces por el tamaño y la forma de los frutos no es tan detectable. De aquí se concluye que las diferencias en cuanto a porcentaje de detección de las gibas se deben a la edad de los frutos al infectarse, ya que el rango de marcaje de mazorcas al inicio del ensayo fue de 3,5 a 11 cm de longitud (de 1 a 2 meses de edad aproximadamente). En las Generaciones 3 y 4 los frutos marcados fueron más pequeños que los de las dos primeras generaciones, de ahí sus diferencias en el porcentaje de detección de este síntoma.

De acuerdo a lo que se comentó anteriormente, las variaciones en el orden de aparición de los síntomas se pueden atribuir a las diferencias microclimáticas al inicio de las generaciones, principalmente de la temperatura.

Según los resultados de esta investigación, el amarillamiento prematuro fue frecuente en todas las generaciones, de acuerdo con lo reportado por Phillips-Mora (2003), y apareció antes o después del surgimiento de los puntos aceitosos y la mancha chocolate. Esta diferencia se observa entre las Generaciones 1 y 2 y las Generaciones 3 y 4, para estas últimas el amarillamiento aparece después de los puntos aceitosos y la mancha chocolate, evidenciando que quizás las temperaturas mayores favorecen que la infección llegue a la superficie del fruto antes de que se amarillente.

## 6 CONCLUSIONES

- Para explicar la incidencia anual de la moniliasis las variables “clon”, “año”, “producción” y “temperatura” son las más importantes.
- Existe evidencia de que la moniliasis es una enfermedad monocíclica.
- La determinación de las generaciones permitió observar los ciclos pequeños y cortos de enfermedad que simulan la epidemia.
- La temperatura del aire y del fruto en los primeros 21 días de vida fueron las únicas variables microclimáticas que se relacionaron con las tasas de crecimiento de la enfermedad en las diferentes generaciones de frutos.
- El rango óptimo de temperatura para el desarrollo y la reproducción de *M. roseri* es de 24-28°C en condiciones *in vivo*.
- Las condiciones de sombra de las parcelas afecta el microclima de las mismas y por ende incrementa la incidencia.
- La edad de los frutos y el microclima pueden variar el cuadro sintomatológico de la enfermedad a través del tiempo.

## **7 RECOMENDACIONES**

- Profundizar en el efecto de la carga fructífera y el arreglo de los frutos.
- Estudiar el efecto de la distribución temporal de la producción sobre el desarrollo de la enfermedad.
- Reforzar el proceso de captura de esporas mediante el uso de otras herramientas como el rotorod con el fin de precisar las conclusiones que se obtuvieron con respecto a la dispersión.
- Emplear otros métodos más prácticos y exactos para el conteo y reconocimiento de esporas.
- Realizar las capturas de esporas a diferentes alturas del árbol y a diferentes distancias de las parcelas.
- Precisar los niveles de sombra de las parcelas, extemarlos y describir las diferencias microclimáticas de los mismos y su influencia en la incidencia de la enfermedad.
- La remoción de mazorcas enfermas a lo largo del período productivo es una estrategia efectiva para el control de una enfermedad monocíclica.

## 8 BIBLIOGRAFÍA

- Ampuero, E. 1967. Monilia rot of cocoa. *Cocoa Grower's Bulletin* 9: 15-18.
- Arciniegas L., A. M. 2005. Caracterización de árboles superiores de cacao (*Theobroma cacao* L.) seleccionados por el programa de mejoramiento genético del CATIE. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 126 p.
- Aylor, D. E. 1990. The role of intermittent wind in the dispersal of fungal pathogens. *Annual Reviews. Phytopathology*. 28: 73-92.
- Barros, O. 1981. Avances en la represión de la moniliasis del cacao. *In: 8th International Cocoa Research Conference*. Colombia. 1981. *Actas Cocoa Producers' Alliance*. Lagos, Nigeria. 401-405 p.
- Bejarano, G. 1961. Métodos de inoculación artificial y factores favorables para la infección de *Monilia royeri* Cif. & Par. Tesis Ing. Agr. Quito, Ecuador. Universidad Central. 69 p.
- Castro, O. E. 1989. Dinámica de la población de conidios e incidencia de moniliasis a diferentes alturas a partir del suelo de un cacaotal de Matina, Limón. 1988. Tesis Lic. San José, Costa Rica. Universidad de Costa Rica. 65 p.
- Campuzano, H. 1980. La moniliasis del cacao. *El Cacaotero Colombiano*. 13: 21-24.
- Campuzano, H. 1981. Influencia de la temperatura y la humedad en la germinación de esporas de *Monilia royeri*. *In: 8th International Cocoa Research Conference*. Colombia. 1981. *Actas Cocoa Producers' Alliance*. Lagos, Nigeria. 493-497 p.
- Chacín, L. 1975. Algunos aspectos biológicos y patogénicos de hongo *Monilia royeri* Ciferri y Parodi, agente causal de la moniliasis en cacao. Tesis Ing. Agr. Maracaibo, Venezuela. Universidad del Zulia. 66 p.

- Desrosiers, R. Suárez, C. 1974. *Monilia* pod rot of cacao. *En* Gregory PH, ed. *Phytophthora disease of cacao*. Londres. p. 273-277.
- Enríquez, G. A. Brenes, O. Delgado, J. 1981. Desarrollo e impacto de la moniliasis del cacao en Costa Rica. *In*: 8th International Cocoa Research Conference. Colombia. 1981. *Actas Cocoa Producers' Alliance*. Lagos, Nigeria. 375-380 p.
- Enríquez, G. A. 1985. Curso sobre el cultivo del cacao. Turrialba, Costa Rica. CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza). 240 p.
- Enríquez, G. A. 2004. Cacao orgánico: Guía para productores ecuatorianos. Quito, Ecuador. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. p. 35-37.
- Evans, H. C. 1981. Pod rot of cacao caused by *Monliophthora (Monilia) roreri*. Commonwealth Mycological Institute. *Phytopathological Papers* 24 (44).
- Evans, H. C. 1986. A reassessment of *Moniliophthora (Monilia)* pod rot of cacao. *Cocoa Growers' Bulletin*. 37: 34-43.
- Evans, H. C. Stalpers, J. A. Samson, R. A. 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.
- Fallas, A. 1983. Estudio sobre la epifitología de la moniliasis del cacao (*Moniliophthora roreri* Cif & Par) Evans en dos zonas productoras de Costa Rica. Tesis Bach. San Carlos, Costa Rica. Instituto Tecnológico de Costa Rica. 78 p.
- FAO (Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). 2004. Perspectivas a plazo medio de los productos básicos agrícolas. Proyecciones al año 2010. (en línea). Roma. Consultado 21 dic. 2009. Disponible en <http://ftp.fao.org/docrep/fao/007/y5143s/y5143s00.pdf>

- FHIA (Fundación Hondureña de Investigación Agrícola). 2003. Identificación y control de la moniliasis del cacao. La Lima, Cortés, Honduras. 19 p.
- Fortiz, L. Robles, H. 2002. How the diseases and plagues affect the production of cacao. *Revista Agricultura Tropica et Subtropica*. 35: 173-177.
- Galindo, J. 1985. Enfermedades del cacao de importancia económica en América. *In: XXV Reunión Anual de la American Phytopathological Society 1985*. Guanajuato, México. 26 p.
- González, L. C. 1981. Efecto de las Fuentes de inóculo sobre las posibilidades de combate de la moniliasis del cacao. Acta de la Primera Jornada de Investigación, 1981. San José, Costa Rica. Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica. p. 28-29.
- Griffiths, E. 1978. Plant disease epidemiology-retrospect and prospect. *In Epidemiology of Phytophthora on cocoa in Nigeria*. P. H. Gregory y A. C. Maddison (editores). Commonwealth Mycological Institute. England. p. 12.
- Guyot, J. Condina, V. Doaré, F. Cilas, C. Sache, I. 2009. Segmentation applied to weather disease relationships in South American leaf blight of the rubber tree. *Eur J Plant Pathol*. DOI 10.1007/s10658-009-9540-1.
- Hawker, L. E. 1950. *Physiology of fungi*. Londres. University of London Press. 360 p.
- Hardy, F. 1961. *Manual de Cacao*. Turrialba, Costa Rica. Editorial Antonio Lehmann. p. 13-14.
- Herrera, F. 1988. Efecto de factores nutricionales y físicos sobre el crecimiento y esporulación de *Moniliophthora roreri in vitro*. Tesis M.Sc. Turrialba, Costa Rica. Universidad de Costa Rica. 159 p.

- Hess, O. 1990. Cocoa production technology. The Pan American Development Foundation Cocoa Rehabilitation & Development Project. 175 p.
- International Cocoa Organization (ICCO). 2009. Annual report. Londres. 36 p.
- López, P. A. Delgado, V. H. Azpeitia, A. López, J. I. Jiménez, J. A. Flores, A. Fraire, L. Castañeda, R. 2003. El cacao en Tabasco: Manejo y producción. Villahermosa, México. p. 2-3.
- López, R. 1954. Fisiología de la germinación de esporos de *Monilia* sp. Cacao en Colombia. 3: 183-207.
- Meléndez, L. 1993. Microambiente, cantidad de esporas en el aire e incidencia del hongo *Moniliophthora roreri* (Cif & Par). Evans *et al.* bajo tres sistemas de manejo de sombra leguminosa en cacao (*Theobroma cacao*). Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 81 p.
- Merchán, VV. 1981. Avances en la investigación de la moniliasis del cacao en Colombia. El Cacaotero Colombiano. 16: 25-44.
- Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). 2010. Productores de cacao unen esfuerzos para impulsar cultivo. (en línea). Costa Rica. Consultado 28 ene 2011. Disponible en <http://prensamag.blogspot.com/2010/11/productores-de-cacao-unen-esfuerzos.html>
- Motamayor, J.C. Lachenaud, P. da Silva e Mota, J.W. Looor, R. Kuhn, D.N. Brown, J.S. Schnell, R.J. 2008. Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L). PLoS ONE 3(10): e3311.
- Moore-Landercker, ME. 1996. Fundamental of fungi. Nueva Jersey, EUA. Prentice Hall. pp. 238-367.
- Parra, D. Sánchez, L. 2005. El control de la moniliasis en el cacao. INIA Divulga. 6: 23-26.

- Pérez, L. Posada, M. A. 1978. Efecto del boro sobre el hongo *Monilia roreri*. El Cacaotero Colombiano. 7: 57-63.
- Phillips-Mora, W. 1986. Evaluación de la resistencia de cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.) a *Moniliophthora roreri* (Cif. y Par.) Evans *et al.* Tesis M.Sc. Turrialba, Costa Rica. CATIE. p. 12
- Phillips-Mora, W. 1996. Studies at CATIE on moniliasis resistance (*Moniliophthora roreri* (Cif. & Par.) Evans *et al.*). International Workshop on the Contribution of Disease Resistance to Cocoa Variety Improvement, 1999. Bahía, Brasil. INGENIC. p. 111-117.
- 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. Tesis Ph.D. Londres, Inglaterra. Universidad de Reading. 349 p.
- Phillips-Mora, W. Coutiño, A. Ortiz, C. López, A. Hernández, J. Aime, M. 2006. First report of *Moniliophthora roreri* causing frosty pod rot (moniliasis disease) of cocoa in Mexico. Plant Pathology. 55 (4): 584.
- Phillips, W. Galindo, J. J. 1985. Effect of light, temperature, carbon and nitrogen sources on growth and sporulation of *Monilia roreri* Cif. & Par. Phytopathology. 75: 1178.
- Porras, V. H. 1982. Epifitología de la moniliasis (*Monilia roreri* Cif y Par.) del cacao y su relación con la producción del árbol en la zona de Matina. Tesis Lic. San José, Costa Rica. Universidad de Costa Rica. 47 p.
- Porras, V. Enríquez, G. 1998. Avance de la moniliasis del cacao en Centroamérica. Agencia de Cooperación Técnica en Costa Rica. IICA. San José, Costa Rica. 20 p.

- Porras, VH. González, LC. 1982. Capacidad de liberación de mazorcas enfermas dejadas en el árbol de cacao. Actas de la V reunión anual de agronomía, 1982. San José, Costa Rica, Colegio de Ingenieros Agrónomos. Vol 1. p. 57-58.
- Ram, A. 1989. Biology, epidemiology and control of moniliasis (*Moniliophthora roreri*) of cacao. Tesis Ph.D. Londres, Inglaterra. Universidad de Londres. 313 p.
- Ram, A. Wheeler, B. E. J. Galindo, J. J. 1987. A technique for enhancing spore germination of *Moniliophthora roreri*. *Phytopathology*. 78: 858.
- Schmitz, WH. 1985. Studies in the Atlantic coast of Costa Rica on the epidemiology of the fungus *Moniliophthora roreri* Evans *et al.* in cacao (*Theobroma cacao* L.). Tesis Ph.D. Göttingen, Alemania. Georg August University. Sólo sumario.
- Schroeder, CA. 1963. Relaciones de temperatura en el fruto de cacao. En Cacao: Finca de cacao La Lola (Sus principales características, programa experimental y suelos). Turrialba, Costa Rica. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. p. 8-11.
- Suárez, C. 1971. Estudio del mecanismo de penetración y del proceso de infección de *Monilia roreri* Cif. Par. en frutos de cacao (*Theobroma cacao* L.). Tesis Ing. Agr. Guayaquil, Ecuador. Universidad de Guayaquil. 59 p.
- Tazelaar, C. 1991. Epidemiology of *Moniliophthora roreri*: A field study in the Atlantic Zone of Costa Rica. Atlantic Zone Programme. Turrialba, CR. CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CR); MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería, CR); AUW (Agriculture University Wageningen). (Fields Reports no 62).
- Thévenin, J. M. Trocmé, O. 1996. La moniliasis del cacao. Plantations, recherche, développement. 3 (6): 403-406.
- Van der Plank, J. E. 1963. Plant diseases: Epidemics and control. Pretoria, South Africa. 349 p.

- Whitlock, B. A. Baum, D. A. 1999. Phylogenetic relationships of *Theobroma* and *Herrania* (Sterculiaceae) based on sequences of the nuclear gene vicilin. *Systematic Botany*. 24: 128-138.
- Wood, G. A. R. 1982. Cacao. Primera edición. México. Compañía Editorial Continental S. A. p. 15-16.
- Wood, G. A. R. Lass, R. A. 1985. Cocoa. Cuarta edición. Cornwall, Reino Unido. Editorial Blackwell Science. 620 p.
- Zadoks, JC. Schein, RD. 1979. *Epidemiology and plant disease management*. Nueva York. Oxford University Press. 427 p.