

UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS
LICENCIATURA EN CIENCIAS AGRÍCOLAS CON ÉNFASIS EN CULTIVOS TROPICALES

EVALUACIÓN DE *Trichoderma harzianum* PARA EL CONTROL DE *Moniliophthora roreri* EN
CACAO; EL TUMBADOR, SAN MARCOS
TESIS DE GRADO

JOSÉ LUIS RUIZ SOLORZANO
CARNET 23254-12

COATEPEQUE, MAYO DE 2017
SEDE REGIONAL DE COATEPEQUE

UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR

FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS

LICENCIATURA EN CIENCIAS AGRÍCOLAS CON ÉNFASIS EN CULTIVOS TROPICALES

EVALUACIÓN DE *Trichoderma harzianum* PARA EL CONTROL DE *Moniliophthora roreri* EN
CACAO; EL TUMBADOR, SAN MARCOS

TESIS DE GRADO

TRABAJO PRESENTADO AL CONSEJO DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS

POR

JOSÉ LUIS RUIZ SOLORZANO

PREVIO A CONFERÍRSELE

EL TÍTULO DE INGENIERO AGRÓNOMO CON ÉNFASIS EN CULTIVOS TROPICALES EN EL GRADO
ACADÉMICO DE LICENCIADO

COATEPEQUE, MAYO DE 2017
SEDE REGIONAL DE COATEPEQUE

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR

RECTOR: P. MARCO TULIO MARTINEZ SALAZAR, S. J.
VICERRECTORA ACADÉMICA: DRA. MARTA LUCRECIA MÉNDEZ GONZÁLEZ DE PENEDO
VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN Y PROYECCIÓN: ING. JOSÉ JUVENTINO GÁLVEZ RUANO
VICERRECTOR DE INTEGRACIÓN UNIVERSITARIA: P. JULIO ENRIQUE MOREIRA CHAVARRÍA, S. J.
VICERRECTOR ADMINISTRATIVO: LIC. ARIEL RIVERA IRÍAS
SECRETARIA GENERAL: LIC. FABIOLA DE LA LUZ PADILLA BELTRANENA DE LORENZANA

AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS

DECANO: DR. ADOLFO OTTONIEL MONTERROSO RIVAS
VICEDECANA: LIC. ANNA CRISTINA BAILEY HERNÁNDEZ
SECRETARIO: MGTR. LUIS MOISES PEÑATE MUNGUÍA

NOMBRE DEL ASESOR DE TRABAJO DE GRADUACIÓN
MGTR. ERICK FERNANDO MARTÍNEZ GÓNZALEZ

TERNA QUE PRACTICÓ LA EVALUACIÓN
MGTR. JULIO ROBERTO GARCÍA MORÁN
MGTR. LUIS MOISES PEÑATE MUNGUÍA
ING. LUIS FELIPE CALDERON BRAN

Guatemala 13 de Marzo 2017

Consejo de Facultad
Ciencias Ambientales y Agrícolas
Presente

Estimados miembros del Consejo:

Por este medio hago constar que he asesorado el trabajo de graduación del estudiante Jose Luis Ruiz Solorzano, carné 23254-12, titulada: **EVALUACIÓN DE *Trichoderma harzianum* PARA EL CONTROL DE *Moniliophthora roreri* EN CACAO (*Theobroma cacao*, L), EN EL TUMBADOR, SAN MARCOS**

La cual considero que cumple con los requisitos establecidos por facultad, previo a su autorización de impresión.

Atentamente,

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Erick F. Martinez Gonzalez', written over a faint circular stamp or watermark.

Ing. Agr. ERICK FERNANDO MARTINEZ GONZALEZ
Colegiado No. 1530
Cod. 7701

Orden de Impresión

De acuerdo a la aprobación de la Evaluación del Trabajo de Graduación en la variante Tesis de Grado del estudiante JOSÉ LUIS RUIZ SOLORZANO, Carnet 23254-12 en la carrera LICENCIATURA EN CIENCIAS AGRÍCOLAS CON ÉNFASIS EN CULTIVOS TROPICALES, de la Sede de Coatepeque, que consta en el Acta No. 0632-2017 de fecha 29 de marzo de 2017, se autoriza la impresión digital del trabajo titulado:

EVALUACIÓN DE *Trichoderma harzianum* PARA EL CONTROL DE *Moniliophthora roreri* EN CACAO; EL TUMBADOR, SAN MARCOS

Previo a conferírsele el título de INGENIERO AGRÓNOMO CON ÉNFASIS EN CULTIVOS TROPICALES en el grado académico de LICENCIADO.

Dado en la ciudad de Guatemala de la Asunción, a los 19 días del mes de mayo del año 2017.



MGTR. LUIS MOISES PEÑATE MUNGUÍA, SECRETARIO
CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS
Universidad Rafael Landívar

AGRADECIMIENTOS

A:

Dios que me dio la vida, la sabiduría y la bendición de superarme.

A mi madre, por el gran amor y devoción que tienes a mi persona, por el apoyo ilimitado e incondicional que siempre me has dado, por tener siempre la fortaleza de salir adelante sin importar los obstáculos, por haberme formado como hombre de bien, y por ser la mujer que me dio la vida y me enseña a vivirla, no hay palabras en este mundo para agradecerte, mama.

La Universidad Rafael Landívar, Facultad de Ciencias Ambientales y Agrícolas por ser parte de mi formación.

Ing. Agr. Erick Fernando Martínez Gonzales, por su asesoría, revisión y corrección de la presente investigación.

Ing. Agr. Roberto Conde, por su apoyo incondicional en proporcionar el área para la ejecución de mi investigación de campo.

DEDICATORIA

A:

Dios (de su devoción): Por su fidelidad y misericordia inconfundible en mi vida

A mi madre: Por ser la amiga y compañera que me ha ayudado a crecer, gracias por estar conmigo en todo momento, gracias por la paciencia que has tenido para enseñarme, por el amor que me das, por tus cuidados en el tiempo que hemos vivido juntos, por los regaños que me merecía y que no entendía, gracias mamá por estar pendiente durante toda esta etapa de mi vida.

A mi hermana María: Que por su amor me ha enseñado a salir adelante, Gracias por su paciencia, gracias por preocuparse por su hermano menor, gracias por compartir sus experiencias y su vida, pero sobre todo, gracias por estar en otro momento tan importante de mi vida.

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	I
SUMMARY	II
1. INTRODUCCIÓN.	1
2. MARCO TEÓRICO.	3
2.1 Antecedentes.	3
2.2 Importancia del Cacao.	4
2.3 Moniliasis del Cacao.	6
2.3.1 Origen y distribución geográfica.	6
2.3.2 Agente causal.	6
2.3.3 Taxonomía y morfología de <i>Moniliophthora roreri</i>	6
2.3.4 Ciclo de vida de <i>M. roreri</i>	8
2.3.5 Procesos de preinfección e infección.	9
2.3.6 Síntomas y signos.	9
2.3.8 Hospederos.	11
2.4 <i>Trichoderma harzianum</i>	11
2.4.1 Taxonomía.	12
2.4.2 Morfología.	12
2.4.3 Condiciones para el desarrollo de <i>T. harzianum</i>	13
2.4.4 Modo de acción.	14
2.4.5 Aplicación de aislamientos de <i>Trichoderma</i> bajo diferentes condiciones.	16
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	19
3.1 Definición del problema y Justificación del trabajo.	19
4. OBJETIVOS.	21
4.1 General.	21
4.2 Específicos.	21
5. HIPÓTESIS.	22
5.1 Alterna.	22
6. METODOLOGÍA.. . . .	23

6.1	Localización del área de trabajo.	23
6.2	Material experimental.	23
6.3	Factores a estudiar.. . . .	23
6.4	Descripción de los tratamientos.	24
6.5	Diseño experimental.	24
6.6	Modelo estadístico.	24
6.7	Unidad experimental.	24
6.8	Manejo del experimento.	25
	6.8.1 Delimitación del área.	25
	6.8.2 Establecimiento de bloques.	25
	6.8.3 Realización de podas y regularización de sombra.	25
	6.8.4 Aplicación de <i>Trichoderma harzianum</i>	26
	6.8.5 Cosecha.	26
	6.8.6 Conteo de mazorcas cosechadas sanas.	26
6.9	Variable de respuesta.	26
	6.9.1 Daño de <i>Moniliophthora roreri</i>	26
	a. Porcentaje de severidad.	26
	b. Porcentaje de incidencia.	27
	6.9.2 Producción.	28
	a. Número de frutos por planta.	28
	b. Rendimiento en Kg/ha.	28
6.10	Análisis de información.	28
	6.10.1 Análisis estadístico.. . . .	28
	6.10.2 Análisis económico.. . . .	28
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	29
	7.1 DAÑO DE <i>Moniliophthora roreri</i>	29
	a. Porcentaje de severidad externa.	29
	b. Porcentaje de severidad interna.	30
	c. Porcentaje de incidencia externa.	32
	7.2 PRODUCCIÓN.. . . .	35
	a. Número de frutos por planta.	35

b. Rendimiento en Kg/ha.	35
7.3 ANÁLISIS ECONÓMICO DE LOS TRATAMIENTOS.	38
8. CONCLUSIONES.	40
9. RECOMENDACIONES.. . . .	41
10. BIBLIOGRAFÍA.	42
11. ANEXOS.	46
11.1 Cronograma de actividades año 2016.	46
11.2 Croquis de campo.	47
11.3 Datos evaluados.	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No.		Página
1.	Estructuras morfológicas de <i>Moniliophthora roreri</i>	7
2.	Ciclo de vida de <i>Moniliophthora roreri</i>	8
3.	Conidióforos de <i>Trichoderma harzianum</i>	13
4.	Unidad experimental.	25
5.	Porcentaje de incidencia externa del hongo <i>Moniliophthora roreri</i>	33
6.	Comportamiento del rendimiento en kg/ha de almendra de Cacao.	37
7.	Curva de beneficios netos y costos para el análisis de dominancia.	39

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No.	Pagina
1. Tratamientos de <i>Trichoderma harzianum</i> .	24
2. Escala de severidad externa en base a tejido afectado en el fruto de cacao.	27
3. Escala de severidad interna en base a tejido afectado en el fruto de cacao.	27
4. Análisis de varianza del porcentaje de severidad externa en frutos.	29
5. Prueba de Tukey a los diferentes tratamientos.	30
6. Análisis de varianza para el porcentaje de severidad interna.	31
7. Efecto de la aplicación de <i>Trichoderma harzianum</i> .	32
8. Análisis de varianza para la variable número de frutos cosechados por planta	35
9. Rendimiento de almendra de Cacao en kg/ha.	36
10. Prueba de Tukey al Rendimiento de almendra de Cacao en kg/ha.	36
11. Cálculo del presupuesto.	38

EVALUACIÓN DE *Trichoderma harzianum* PARA EL CONTROL DE *Moniliophthora roreri* EN CACAO (*Theobroma cacao*, L), EN EL TUMBADOR, SAN MARCOS

RESUMEN

El objetivo de este trabajo de investigación fue evaluar las dosis 150gr, 300gr, 450gr y 600gr de *Trichoderma harzianum* para el control de *Moniliophthora rori* en cacao (*Theobroma cacao* L.). Se realizó bajo condiciones de campo de la finca Honduras. El Tumbador, San Marcos. En una plantación de cacao criollo tipo cundeamor. Las variables de estudio fueron: daño de la enfermedad (% incidencia y % severidad) y producción (número de frutos/planta y rendimiento kg/ha). Los resultados obtenidos mostraron que las dosis de *Trichoderma harzianum* evaluadas para el control de *Moniliophthora roreri* presentaron diferencia significativa entre ellas, por lo que estas disminuyeron el daño aceptándose la hipótesis alterna. Los porcentajes de severidad externa presentaron la menor virulencia de la enfermedad al aplicar la dosis de 300 gramos a una frecuencia de 15 días, permitiendo únicamente 13% de severidad externa. La incidencia externa del patógeno a través del tiempo mostró que la mejor aplicación durante las seis semanas se logró con la dosis de 450 gr. Los mayores rendimientos de almendra de cacao se obtuvo con el tratamiento donde se aplicaron 450 gr de *T. harzianum*, se obtuvo un rendimiento de 1075.50 kg/ha, por lo que también permitió el mayor beneficio económico, con una rentabilidad de 22.91%. La variable número de frutos por árbol no presento diferencia estadística significativa. Se concluye que esta medida de bajo impacto ambiental mitiga el efecto del patógeno, disminuyendo el daño de la mazorca.

**EVALUATION OF *Trichoderma Harzianum* FOR THE CONTROL OF
Moniliophthora Roreri IN CACAO (*Theobroma cacao*, L), IN EL TUMBADOR, SAN
MARCOS**

SUMMARY

The objective of this research study was to evaluate the 150g, 300g, 18 and 600g doses of *Trichoderma harzianum* for the control of *Moniliophthora rori* in cacao (*Theobroma cacao* L.). It was carried out under the field conditions of the Honduras farm, El Tumbador, San Marcos, in a creole bitter gourd-type cacao plantation. The study variables were: Disease damage (incidence and severity %) and production (number of fruits/plant and yield kg/ha). The results showed that the doses of *Trichoderma harzianum* evaluated for the control of *Moniliophthora roreri* showed significant differences between them, reducing the damage and accepting the alternate hypothesis. The external severity percentages showed the lowest disease virulence when applying the dose of 300 grams at a frequency of 15 days, allowing only 13% of external severity. The pathogen's external incidence over time showed that the best application during the six weeks was achieved with the 450g dose. The highest yields of cacao almond were obtained with the treatment where 450g of *T. harzianum* were applied; a yield of 1075.50 kg/ha was obtained, so it also allowed the greatest economic benefit, with a profitability of 28.34%. The number of fruits per tree variable does not show a significant statistical difference. It is concluded that this measure of low environmental impact mitigates the effect of the pathogen, reducing the damage to the cob.

1. INTRODUCCIÓN

El cacao en Guatemala, es un cultivo de importancia económica, especialmente para productores del Norte y Sur occidente de Guatemala ubicados en los departamentos de Alta Verapaz y Suchitepéquez, Retalhuleu. Quetzaltenango y San Marcos principalmente, ya que es el sexto de 29 cultivos alternativos de exportación. Esta alternativa ha cobrado mucha expectativa entre productores a pequeña escala y cafetaleros, que desean diversificar su producción, más cuando existe una demanda creciente del producto.

Guatemala ocupaba el segundo lugar de la producción de cacao en Centro América, hasta la década de los 90s, se encontraba libre de *Moniliasis* que era una enfermedad cuarentenada; pero actualmente se encuentra presente en las áreas de producción de cacao de todo el país.

En los frutos menores de dos meses la infección aparece primero como pequeñas protuberancias en la superficie de la mazorca. Después que emerge esta verruga surge la mancha chocolate. El fruto muere poco tiempo después. En frutos infectados a mitad de su desarrollo, la enfermedad aparece primero en forma de pequeños puntos aceitosos (translúcidos). En muy corto tiempo esos puntos se unen formando una mancha café su borde es irregular y a veces produce un color amarillento por donde va avanzando la enfermedad. A los pocos días sobre la mancha café aparece el micelio y luego las esporas que forman un grupo acumulado abundante de color crema.

El control de la Moniliasis del cacao por medio de fungicidas es poco efectivo y, sobre todo, poco económica. Adicionalmente, esta práctica no es indispensable para poder convivir con la enfermedad. Por lo que en la búsqueda de opciones se optó por el uso de microorganismos antagónicos para su control. El hongo antagonista del género *Trichoderma* quien fue evaluado en la presente investigación mostró que los porcentajes de severidad externa presentaron la menor virulencia de la enfermedad al aplicar la dosis de 450 gramos con 4.5×10^{14} UFC/ha de *Trichoderma harzianum* a una

frecuencia de aplicación a cada 15 días, permitiendo únicamente 13% de severidad externa del patógeno *Moniliophthora roreri*.

Entre los mecanismos de acción utilizados por *Trichoderma* spp., se destaca la competencia por el espacio y los nutrientes, el micoparasitismo, la producción de compuestos inhibidores, la inactivación de enzimas del agente patógeno y la inducción de resistencia en la planta, partiendo de esto, la presente investigación se tuvo que los frutos inoculados con *Trichoderma harzianum*, con dosis de 450 y 600 gramos con 4.5×10^{14} UFC/ha y 6.0×10^{14} UFC/ha, permitieron durante las 6 semanas un 12.85% de esporulación del hongo, por lo que al final de la evaluación, estos 2 tratamientos fueron los que permitieron la menor incidencia del patógeno.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES

En Perú se reportaron resultados altamente promisorios con micoparásitos (*Trichoderma* sp., *Clonostachys rosea* y *Clonostachys byssicola*) en varias mezclas y formulaciones (Krauss y Soberanis, 2003). Estos mismos autores mencionan, que este control por su naturaleza, no elimina a *Moniliophthora roreri*, sino que reduce las poblaciones de patógenos y, como consecuencia, reduce la intensidad de la enfermedad.

En Colombia, los resultados obtenidos durante la prueba de antagonismo in vitro, fue observado una inhibición en el crecimiento de *Moniliophthora roreri* de un 95% frente a la cepa de *Trichoderma* sp. De Zuilia, pudiendo ser un posible controlador biológico para la moniliasis, entre tanto la cepa *Trichoderma* sp., de Iscalá fue del 70%, entre tanto la de *Trichoderma* sp. Cubana fue de un 55%. Estos valores de inhibición por encima del 50%, los convierten en posibles controladores biológicos (Suárez, 2006).

En Venezuela, identificaron la microbiota en plantas de cacao, donde estudiaron muestras de hojas, encontrando en ellas una población epifita de cacao muy abundante, siendo 48 especies de hongos, de los cuales, fueron detectados *Penicillium* sp. y *Gliocladium* sp., como posibles controladores biológicos (Suárez, 2006).

Las cepas de *Trichoderma* pueden activar un mecanismo nativo de defensa en las plantas contra diferentes plagas, conocido como Resistencia Sistémica Inducida (SIR-*Systemic Induced Resistance*). Diversas clases de compuestos pueden ser liberados por *Trichoderma* en la zona de la rizosfera y estar relacionados con la IRS en las plantas. Aún no se esclarecen y amplían los conocimientos acerca de *Trichoderma* como inductor de resistencia, pero es indiscutible su función en la defensa de las plantas (Shoresh et al., 2010; Martínez et al., 2013)

Los principales mecanismos involucrados en el control biológico de fitopatógenos con el uso de bacterias antagonistas como *Bacillus* sp., son la competencia por nutrientes,

minerales y espacio; la síntesis de metabolitos, tales como sideróforos, antibióticos, toxinas y biosurfactantes, y la inducción de resistencia sistémica en la planta. Estos mecanismos son potenciados por alta motilidad del microorganismo y su capacidad de formar biopelículas (Martínez et al., 2013)

Estudios realizados durante los últimos años han demostrado el gran potencial de hongos (Krauss y Soberanis, 2003) y bacterias endófitas para el control de la moniliasis. Entre los microorganismos más importantes se encuentran las bacterias de los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus* y hongos de los géneros *Gliocladium* y *Trichoderma*. Este último es el más utilizado para el control de un grupo importante de patógenos del suelo (CATIE, 2005).

Dentro de los principales mecanismos de acción que poseen estos agentes de biocontrol están el micoparasitismo, la competencia por nutrientes, la antibiosis, la tolerancia a factores ambientales adversos, la resistencia a plagas y enfermedades, la promoción de crecimiento vegetal, entre otros. En pruebas *in vitro* microorganismos endófitos nativos aislados de cacao mostraron ser promisorios agentes antagonistas contra *M. royeri* (Jaimes y Aranzazu 2010), entre los principales antagonistas se encontraron hongos de los géneros *Trichoderma*, *Lecanicillium*, *Gliocladium* y *Paecilomyces*, bacterias de los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas* y *actinomicetos*.

2.2 IMPORTANCIA DEL CACAO

Guatemala es el segundo país productor y procesador de cacao en Centroamérica. El área cultivada es de 4,700 ha con 64% en la región Sur-occidental y 36% en el área Norte. El cacao, se cultiva actualmente en Guatemala en altitudes menores a los 500 msnm como en el caso de la costa Sur y Norte del país. Guatemala ha disminuido de los años 80 a la fecha, su producción de 22, 727,273 a 1,363, 636 kg (AGEXPRONT 2002).

En el mercado internacional se suelen clasificar los granos de cacao en dos categorías: la primera es la de los granos utilizados en la fabricación de chocolate corriente y otros

derivados como el polvo, el licor y la manteca de cacao; la segunda, es la de los granos que dan ciertas características específicas (bien sea de aroma o de sabor) en chocolates finos, en capas de cobertura o en otras preparaciones especiales. Los granos de la primera categoría se denominan granos ordinarios y los de la segunda, finos o de aroma. La distinción entre estas dos categorías carece de importancia y la clasificación se efectúa de acuerdo con los propios criterios y necesidades del comprador (AGEXPRONT 2002).

Más del 90% de la producción mundial es de granos ordinarios, es decir de cacao forastero o de sus híbridos con otras variedades, se estima que dos tercios de la producción mundial de granos de cacao se emplean para hacer chocolate, mientras que, el tercio restante corresponde a cacao en polvo y manteca de cacao. Aunque el cacao en polvo y la manteca pueden utilizarse, a su vez, para elaborar chocolates, también son materias primas demandadas por industrias diferentes, pero en menores cantidades, como ocurre en las industrias de cosméticos, de alimentación animal, de bebidas alcohólicas, entre otras (CATIE. 2005).

La producción mundial de granos de cacao ha aumentado considerablemente durante las últimas dos décadas, pasando de 1,67 millones de toneladas en 1980 a 2,81 millones de toneladas en el 2002. Cabe destacar que, entre 1995 y 2001, la producción alcanzó volúmenes sin precedentes, ubicándose por encima de los 2,81 millones de toneladas anualmente, con un pico en el 2000, de 3,84 millones de toneladas. A pesar de que los dos últimos años muestran un marcado descenso en las cosechas mundiales (cerca del 17%), se puede decir que en el período 1980- 2002 la tasa de crecimiento fue de 3,4% anual.

El descenso del 17% en la producción mundial de granos de cacao entre el 2000 y el 2002 obedeció fundamentalmente a bajas en la oferta proveniente de Costa de Marfil (-28,4%), Indonesia (-25,3%) y Ghana (-13%).

2.3 MONILIASIS DEL CACAO

2.3.1 Origen y distribución geográfica

La Moniliasis del cacao fue descrita por primera vez en la región de Quevedo, Ecuador en 1916, por J. B. Rorer. Sur América, es considerada como el centro de origen de esta enfermedad (CATIE. 2005).

Para el 2003, la enfermedad se citó que existe, en Sur América se encuentra en Colombia, Ecuador, Perú-, Venezuela, Surinam, Panamá, en Centroamérica esta reportada para los países Costa Rica, Nicaragua, El Salvador y Honduras, en el lado fronterizo de Guatemala (Puerto Barrios en el sector Atlántico, fronterizo con Honduras) (CATIE. 2005).

2.3.2 Agente causal

El microorganismo causal de la moniliasis del cacao es el *hongo Moniliophthora roreri*, un hongo de la clase Anamórfico y del Orden Moniliales. Aún no se conoce su estado perfecto (sexual), por lo que se cree que su reproducción se realiza sólo asexualmente por conidios. Los conidios son las únicas estructuras, hasta ahora conocidas, capaces de causar infección. Actualmente se sugiere la inclusión del hongo *Moniliophthora roreri* en la clase Basidiomicetes, especie *Crinipellis roreri*, var. *roreri* (Evans et al, 2007) (CATIE. 2005).

2.3.3 Taxonomía y morfología de *Moniliophthora roreri*

El agente causal de la *Moniliophthora roreri* se describió originalmente por Ciferri y Parodi (1933), clasificándolo como *Monilia roreri*; sin embargo, Evans *et al.* (2007) observaron características miceliales típicas de Basidiomycetes, por lo que decidieron crear un nuevo nombre para denominar la especie con el nombre de *Moniliophthora roreri*. Mediante técnicas moleculares confirmó que el hongo es un Basidiomycete perteneciente al orden Agaricales. Posteriormente, confirmaron la ubicación de *M. roreri* dentro de la familia *Tricholomataceae*. (Phillips-Mora 2007),

La clasificación taxonómica de *M. roreri* propuesta por (ITIS 2015a), es la siguiente:

Reino: Fungi

Filo: Basidiomycota

Clase: Agaricomycetes

Orden: Agaricales

Familia: Marasmiaceae

Género: *Moniliophthora*

Especie: *Moniliophthora roreri*.

M. roreri posee micelio septado con doliporos típicos (Figura 1). Las esporas se producen en cadenas con maduración basipétala (Evans, 2007) y se desprenden fácilmente del micelio; su pared es gruesa y amarilla-pálido o café cuando forman masas de esporas. Las esporas principalmente son globosas y elipsoides, las cuales se presentan en una proporción aproximada al 60% y 30% con un diámetro promedio de 9 μm y de 8.6 x 11.8 μm , respectivamente (Phillips-Mora, 2007).

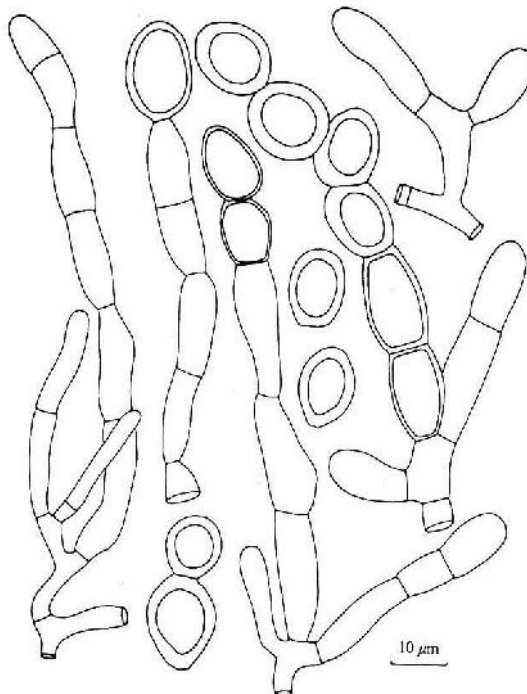


Figura 1. Estructuras morfológicas de *Moniliophthora roreri* mostrando micelio septado y esporas con pared gruesa (Evans, 1981).

2.3.4 Ciclo de vida de *M. roreri*

M. roreri es un patógeno hemibiotrófico, debido a que posee una etapa biotrófica y una necrotrófica. Este inusual ciclo vital pleomórfico, hemibiotrófico que presenta *M. roreri*, también es observado en otro de los patógenos importantes del cacao: *M. pernicioso*. La fase reproductiva observada en *M. roreri* es sexual, y que este patógeno corresponde a un teleomorfo modificado, durante la esporogénesis y germinación ocurre la meiosis, la cual da lugar a la formación de hifas infectivas monocarióticas. La fase parasítica haploide se da sólo en el tejido vivo (biotrófico), en la que el hongo crece y se alimenta intercelularmente sin activar los mecanismos de defensa del hospedero. Una señal no identificada (asociada con la edad del fruto) estimula la transición a la fase diploide necrotrófica, la cual induce los síntomas internos y externos característicos de la moniliasis. (Evans, 2007)

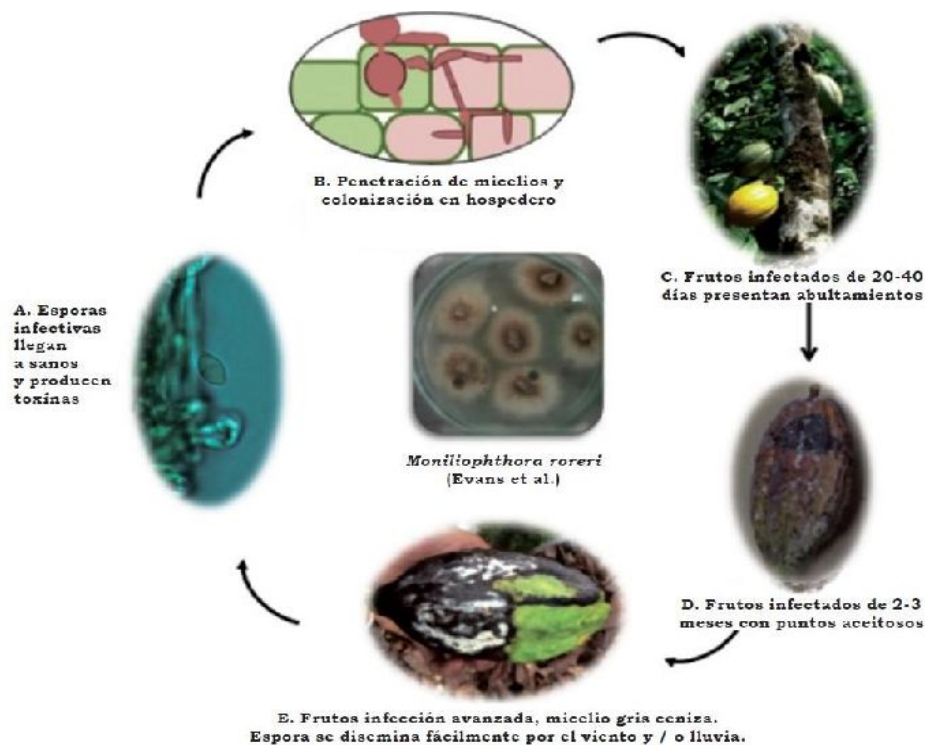


Figura 2. Ciclo de vida de *Moniliophthora roreri* **A.** inicio de la infección, las esporas maduras son diseminadas por viento y agua. **B.** penetración en la superficie del fruto, invadiendo las células parenquimáticas, **C.** Al primer mes pos-infección se observan abultamiento en frutos. **D.** se generan pequeñas manchas aceitosas de color café. **E.** después de 3 meses se observa un micelio blanco que luego se transforma en gris-crema debido a la esporulación (Tomado de Ram *et al*, 2004).

2.3.5 Procesos de preinfección e infección

Los conidios dispersados por el aire se adhieren a la superficie de la epidermis del fruto, con mayor afinidad a la base de los tricomas glandulares, lo cual puede ser favorecido por mayor acumulación de agua en la base de estas estructuras los conidios germinan directamente a través del poro germinativo o de la pared, emitiendo uno a dos tubos germinativos que se extienden sobre la epidermis (Flores-Mora, 1989).

A pesar de la alta densidad de estomas en los frutos de cacao, no se observa penetración a través de estas estructuras; sin embargo, en la mayoría de los casos se registra el crecimiento de tubos germinativos sobre alvéolos de la superficie del fruto y aparentemente la penetración ocurre directamente a través de la epidermis, lo cual sugiere que la penetración directa es la principal forma de ingreso del patógeno con una tendencia de los tubos germinativos de dirigirse hacia la base de los tricomas glandulares (Flores-Mora, 1989).

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

El hongo puede invadir intracelularmente tejidos del exocarpo y mesocarpo, únicamente después que ha colonizado el endocarpo. El periodo de incubación desde la penetración hasta la manifestación de los primeros síntomas externos es de 40 a 60 días y cuya forma depende de la edad del fruto al momento de la infección y del cultivar (Flores-Mora, 1989).

2.3.6 Síntomas y signos

En las primeras etapas de desarrollo (menores de tres meses), los frutos de cacao son más susceptibles a la infección de *Moniliophthora roreri* y progresivamente se hacen más resistentes a medida que avanza su crecimiento. En los frutos menores de dos meses la infección aparece primero como pequeños abultamientos o protuberancias en

la superficie de la mazorca, incluso esa área se decolora (se vuelve más clara). Después de que emerge ese abultamiento o protuberancia, surge la mancha café que se va extendiendo y sobre ella empieza a aparecer una felpa blanca correspondiendo al micelio del hongo (filamentos vegetativos), luego de tres a siete días y ahí mismo sobre el micelio blanquecino empiezan a emerger las esporas del tipo conidio de color crema, que son liberadas y dispersadas por la acción del viento, principalmente (SENASA, 2006).

En frutos infectados a mitad de su desarrollo, la enfermedad aparece primero en forma de unos pequeños puntos aceitosos (translúcidos). En muy corto tiempo esos puntos se unen formando una mancha café. El borde de la mancha es irregular y a veces produce un color amarillento por donde va avanzando la enfermedad. A los pocos días sobre la mancha café aparece el micelio y luego las esporas que forman un grupo acumulado abundante de color crema. Las esporas o "semillas" que reproducen el hongo son tan abundantes que en sólo un centímetro cuadrado, que podría ser como el tamaño de una uña, se cuentan desde 7 a 43 millones, bastando sólo una para iniciar la enfermedad (SENASA, 2006).

En los frutos jóvenes no hay formación de semillas, se genera una masa fibrosa parecida a la gelatina que a semillas en proceso de desarrollo normal. En frutos afectados, después de dos a tres meses de edad, sí se forman las semillas pero luego se pudren al ser alcanzadas por el hongo. El daño interno causado por la moniliasis es aún más grave que el daño externo, pues se pierden casi todas las semillas, sin importar la edad del fruto (SENASA, 2006).

En los frutos adultos (mayores de tres meses) el síntoma más común de la moniliasis es una mancha de color café, que puede extenderse hasta cubrir todo el fruto. Esa mancha se caracteriza, y a su vez se diferencia de la *Phytophthora* sp. (Mazorca negra), por presentar el borde de avance de la lesión en forma irregular (no bien definido) (SENASA, 2006).

En algunos casos en que el fruto está próximo a la madurez el daño no alcanza a notarse externamente, sin embargo al partir el fruto se observa la descomposición interna que hace inutilizables las semillas. Por lo general, al tacto esos frutos son más pesados que los sanos y por ello en algunos países le llaman "mano de piedra" a este síntoma (SENASA, 2006).

También es común la llamada apariencia de madurez prematura, lo que significa que los frutos cambian de color, dando la impresión de madurez normal en frutos que todavía no tienen el tamaño ni la edad de cosecha (SENASA, 2006).

2.3.7 Hospederos

El hongo sólo ha sido encontrado atacando los frutos de los géneros *Theobroma*, tales como *T. cacao*, *T. bicolor*, *T. grandiflora*. Y *Herrania* tales como *H. baloencis*, *H. nítida*, pero más frecuentemente en cacao, ambos géneros pertenecen a la familia *Esterculiaceae* (FHIA, 2006).

2.4 TRICHODERMA HARZIANUM

Este hongo fue descrito por primera vez hace 200 años por los micólogos como un gasteromicetes y solo un siglo después se realizó el análisis de su estructura y características para ser clasificado como género entre los hongos filamentosos, con propiedades y actividades biológicas cada vez más usadas en la agricultura actual. Su habilidad como antagonista solo fue descubierta hace 50 años y gran cantidad de artículos técnicos se han escrito describiendo sus bondades en el manejo biológico de los cultivos agrícolas (Álvarez, 2008).

El género *Trichoderma* está en el ambiente y especialmente en el suelo. Se ha utilizado en aplicaciones comerciales para la producción de enzimas y para la regulación de los fitopatógenos que enferman las plantas (Álvarez, 2008).

Se encuentra en suelos abundantes en materia orgánica y por su relación con ella está clasificado en el grupo de hongos hipógeos, lignolícolas y depredadores. Es aeróbico y pueden estar en los suelos con pH neutro hasta ácido (Álvarez, 2008).

2.4.1 Taxonomía

De acuerdo a la clasificación taxonómica ITIS (2015b), *Trichoderma* se clasifica de la siguiente manera:

Reino: Fungí

División: Ascomycota

Subdivisión: Pezizomycotina

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocreaceae

Género: *Trichoderma*

Especie: *T. harzianum*

Género *Trichoderma* cuenta con 27 especies conocidas como: *T. harzianum* Rifai, *T. viride* Pers., *T. polysporum* Link fr, *T. reesei* EG Simmons, *T. virens*, *T. longibrachatum* Rifai, *T. parceromosum*, *T. pseudokoningii*, *T. hamatum*, *T. lignorum* y *T. citroviride* (Samuels, 2001)

Su fase perfecta (estado Telomorfo) lo ubica en la Clase *Ascomycetes*, Serie *Pyrenomycetes*, Orden *Hipocreales*, Género *Hypocrea*. Tiene como sinónimos el género *Tolypocladium* (Samuels, 2001)

2.4.2 Morfología

Morfológicamente, es un hongo que posee estructuras del tipo de conidias hialinas uniceluladas, ovoide en conidióforo hialino largo no verticilado, nace en centros pequeños. Tiene la capacidad de producir clamidosporas en sustratos naturales, estructuras de vital importancia para la sobrevivencia del género en el suelo bajo

condiciones adversas. Es saprofito del suelo y de la madera y su crecimiento es muy rápido (Álvarez, 2008).

El género *Trichoderma* en su estado vegetativo presenta micelio con septos simples. Las especies son haploides y su pared está compuesta por quitina y glucano. Se reproducen asexualmente por conidios. Presentan conidióforos hialinos ramificados, fiálides simples o en grupos, conidios de 3 a 5 μm de diámetro, generalmente ovalados, unicelulares, coloreados (usualmente verdes) (Figura 3); de rápido desarrollo en medios sintéticos. Tiene la capacidad de producir clamidosporas en sustratos naturales que, son unicelulares, pero pueden unirse entre dos o más. Estas estructuras son de vital importancia para la sobrevivencia del género en el suelo bajo condiciones adversas. El organismo crece y se ramifica desarrollando típicas hifas, de 5 a 10 μm de ancho (Álvarez, 2008).



Figura 3. Conidióforos de *Trichoderma harzianum* (Guedez, Cañizales, Castillo, 2009).

2.4.3 Condiciones para el desarrollo de *T. harzianum*

La alta presencia de humedad y el riego mejora las condiciones de vida de muchos microorganismos entre ellos *T. harzianum*, pasando de un estado latente a uno activo y desarrollándose óptimamente hasta en un 60 % de plena capacidad del suelo de retención de humedad (Álvarez, 2008).

A porcentajes mayores de saturación se disminuye la colonización y sobrevivencia por la baja disponibilidad de oxígeno. Es favorecido por condiciones de pH ácido donde su población se incrementa por una mayor formación de conidióforos, por la germinación de conidias y por menor competencia con microorganismos como actinomicetos y bacterias que se encuentran limitados por la acidez (Álvarez, 2008).

En suelos con temperatura que oscilan entre los 10 ° y 15° c y baja disponibilidad de nutrientes esenciales no crece y se afecta la actividad benéfica (Álvarez, 2008).

2.4.4 Modo de acción

El modo de acción de *Trichoderma* está asociado a la descomposición de la materia orgánica que hay en el suelo y por el antagonismo con microorganismos patógenos a las plantas usando procesos de amensalismo, depredación, parasitismo y competencia, y por su Hiperparasitismo.

Trichoderma participa en la biotransformación de celulosa (polímeros de glucosa de alto peso molecular), en la transformación de hemicelulosa (polisacárido que por hidrólisis libera hexosa y pentosa), en la mineralización del Nitrógeno (reacciones hidrolíticas) y de algunas proteínas presentes, en la degradación y en la descomposición de la lignina y el humus que al tener estructuras basadas en núcleos aromáticos son degradados por oxidación de cadenas laterales (Villegas, 2014).

Estos procesos biológicos de digerimiento favorecen el crecimiento de la planta, le ofrecen un mayor vigor germinativo a las semillas, un mejor desarrollo de la raíz y una mejor expresión fenotípica (Villegas, 2014).

El principal beneficio del *Trichoderma* para la agricultura es el Antagonismo con microorganismos patógenos de las plantas por su capacidad para producir secreciones enzimáticas tóxicas extracelulares que causan desintegración y muerte en hongos fitopatógenos que habitan el suelo (micoparasitismo), en la degradación de paredes celulares de las hifas de hongos patogénicos(depredación), en la producción de químicos volátiles y antibióticos antifungales que inhiben hongos basidiomicetos

(amensalismo), en la colonización directa del hongo por penetración hifal (predación), en la competencia por oxígeno, nutrientes y espacio en el suelo y por su gran adaptabilidad y rápido crecimiento (Villegas, 2014).

Diferentes especies de *Trichoderma* tienen la capacidad antagonista contra hongos fitopatógenos como *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* fs dianthii, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletotricum gloeosporioides*, *Sclerotium rolfsii*, *Rosellinia bunodes*, *Phytophthora cinnamomi*, *Phytophthora cactorum* con *Trichoderma harzianum*, *Botrytis cinerea* con *T. virens*, *Rosellinia bunodes* con *T. pseudokoningii*, *Armillaria mellea* con *T. viride*, *Phytium* sp. y *Phytophthora* sp con *T. hamatum*, *Cryptonectria parasítica* con *T. parceromosum* (Villegas, 2014).

Diversos trabajos al nivel de laboratorio y corroborados con pruebas de eficacia en cultivos agrícolas, definieron que la mejor dosis de *Trichoderma* como bioregulador de fitopatógenos en el suelo es una dosis de 1×10^6 UFC por metro cuadrado de suelo (Villegas, 2014).

Resultados de campo demuestran un incremento en la actividad de las especies de *Trichoderma harzianum* como micoparásito, cuando se inoculan en la semilla disminuyendo la población de *Rhizoctonia solani*, *Sarocladium* sp y *Phytium* sp en el suelo. También se comprobó que la aplicación sobre el suelo en pre siembra, siembra y post-emergencia temprana, logra disminuir la incidencia de las enfermedades en el cultivo en más del 60% y además demora la aparición de los síntomas de los patógenos en la planta (Villegas, 2014).

En el sector agrícola, la investigación y el desarrollo de *Trichoderma* se han trabajado en tres aspectos:

1. Evaluar la capacidad antagónica contra hongos fitopatógenos agentes causales de pudriciones radiculares y marchitamientos como *Rhizoctonia solani*, *Sarocladium* sp. y *Sclerotinia* sp en Arroz, Flores, Papa, Hortalizas, Frutales y Frijol, *Fusarium oxysporum* en Clavel, *Botrytis cinerea* en Flores, *Ceratocystis fimbriata* en Cafeto, *Rosellinia bunodes* en Cacao, *Phytophthora cactorum* en Manzano, *Colletotricum gloeosporioides* en Tomate de árbol.

2. Determinar su tolerancia a la aplicación de fungicidas a base de Clorotalonil, Captan, Carboxim, Benomil, Mancozeb, Fosetil de aluminio, Metalaxil.
3. Evaluar su comportamiento en mezcla con herbicidas e insecticidas en diferentes cultivos agrícolas como el Arroz, las Flores, el Banano y la Papa.

Cuando se aplica *Trichoderma* en campo se deben tener en cuenta varios aspectos importantes que permitan su adecuada expresión, que se relacionan con la interacción planta hospedante – fitopatógeno susceptible – ambiente favorable (Temperatura del suelo, humedad, presencia de oxígeno, pH), Condiciones del suelo (estructura, contenido de materia orgánica y nutrientes) y tiempo (Villegas, 2014).

2.4.5 Aplicación de aislamientos de *Trichoderma* bajo diferentes condiciones

En la práctica se deben tener en cuenta aquellos aspectos, que permitan la expresión de los mecanismos de control de la cepa, y que se relacionan con la interacción planta - fitopatógeno susceptible - ambiente favorable (temperatura, humedad, presencia de oxígeno, pH), condiciones del suelo (estructura, contenido de materia orgánica y nutrientes) y horario de aplicación (Villegas, 2014).

Los productos a partir de cepas seleccionadas de *Trichoderma* pueden ser aplicados bajo diferentes condiciones.

Así por ejemplo, *Trichoderma* puede ser inoculado al sustrato para semilleros o directamente al suelo en semilleros a campo abierto. Este tipo de tratamiento ofrece incluso una protección mayor a los cultivos. También puede mezclarse con abonos orgánicos (estiércol, *casting* y biotierra) y otras enmiendas utilizadas como biofertilizantes, tal como se hace con inoculantes bacterianos usados como fertilizantes ecológicos (Villegas, 2014).

En semilleros de algodón se obtuvo cerca del 60% de reducción de la pudrición del cuello, causada por *R. solani*, cuando se aplicaron dos aislamientos de *T. asperellum*. En sistemas de producción protegida, el uso de *Trichoderma* en la obtención de plantas, es una práctica internacional, garantizando plantas de alta calidad y con protección (Villegas, 2014).

La aplicación al suelo en pre-siembra, siembra y post-emergencia temprana, logró disminuir la incidencia de las enfermedades en más del 60%, y retrasó la aparición de los síntomas de los patógenos en plantas. Durmanet *al.*, lograron disminuir el crecimiento y la supervivencia de esclerocios de *R. solani* al aplicar aislamientos de *Trichoderma* spp., con resultados satisfactorios en el control de este patógeno en tomate de invernadero (Villegas, 2014).

El tratamiento de la semilla con *Trichoderma* se emplea para el combate de hongos fitopatógenos, con los objetivos de disminuir la infestación natural acompañante de la misma, y darle protección en el nicho, al ser sembrada la semilla. Esta variante es muy utilizada por ser rápida, de fácil realización y economizar tiempo y recursos. En el proceso, es importante tener en cuenta la textura de las semillas y la incorporación de un adherente, para asegurar el recubrimiento de estas con la dosis recomendada del producto, con la inoculación a la semilla de *T. harzianum*, obtuvo disminución en poblaciones de *R. solani*, *Sarocladium* spp. y *Pythium* spp. en suelo, con incremento de la actividad del micoparásito. (Villegas, 2014)

En Cuba, con el tratamiento de semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), pimiento (*Capsicum annuum* L.) y tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) con *Trichoderma* se protegieron eficientemente plantas frente a *R. solani*, sin necesidad de tratamiento al suelo previo a la siembra. En el cultivo del arroz se recomienda la desinfección de semillas con *Trichoderma* fundamentalmente para el control de *Sarocladium oryzae* (Villegas 2014),

Emplearon el tratamiento combinado a semilla y suelo con la cepa de *T. viride* (NCC 34) unos 25 días previos al trasplante, y lograron una reducción de la incidencia del Tizón de la vaina en arroz del 45,7%. Para el control de esta enfermedad se demostró que las aplicaciones a las plantas antes del trasplante y durante el primer estrés hídrico del cultivo, lograron una eficacia técnica de más de 70% con dos cepas de *T. asperellum* a la dosis de $3,5 \times 10^{11}$ conidios/ha, estimulando además el ahijamiento de las plantas (Villegas 2014),

Especies/cepas de *Trichoderma* son capaces además, de combatir patógenos foliares y aéreos. En estos casos, es importante el uso de adherentes que sean compatibles con *Trichoderma*. Con aplicaciones aéreas de *T. harzianum*, a las dosis de 5 y 10 kg/ha se disminuyó la incidencia de *R. solani* en plantas de arroz, en aproximadamente 30%, mientras, aplicaciones de *T. harzianum* y *T. viride* al follaje cada 14 días, permitieron una disminución, tanto de la intensidad, como de la severidad de la moniliasis en cacao (Villegas 2014),

Otra forma de aplicación de *Trichoderma* es la aplicación en residuos vegetales. En este sentido, es posible la incorporación de *Trichoderma* para la descomposición de residuos de cosecha y que a su vez parasite a *R. solani*, y con ello disminuir la carga del patógeno en campos de arroz. Esta hipótesis fue comprobada cuando incorporó *T. harzianum* conjuntamente con los restos de cosecha de arroz y obtuvo una reducción de hasta 50% de los esclerocios y de 13,40% de la severidad de *R. solani* en el cultivo. (Garrido 2009)

Las bondades que presentan las cepas del antagonista *Trichoderma*, han hecho posible la elaboración de productos biológicos con características amigables con el ambiente. Pero el éxito de estas como producto, está amparado por una precisa selección de cepas, tanto desde el punto de vista fisiológico, como por el atributo objeto de uso, y por un estricto sistema de calidad para su producción. La versatilidad, la gama de mecanismos biológicos y la plasticidad ecológica que posee *Trichoderma*, hicieron que se convirtiera en un excelente controlador biológico (Garrido, 2009)

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

3.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

Moniliophthora roreri, fue reportada en Guatemala en el año 2002, está entre las principales enfermedades que atacan la mazorca de cacao, su severidad es destructiva, provocando una considerable disminución en el rendimiento. Puede causar pérdidas que van desde 20%-30% de la producción total hasta un 95%. Infecta mazorcas de cacao de cualquier edad. El hongo invade tejidos, produciendo necrosis, deformación y pudrición. (Phillips-Mora, 2006).

Sus efectos devastadores han causado el abandono de miles de hectáreas durante un periodo de casi 200 años (Phillips-Mora, 2006), causando pudrición de mazorcas en el neotrópico (Evans, 2007). En vista a este problema los agricultores han comenzado un acelerado proceso de sustitución de cacaotales de tipo “criollo” por híbridos de origen trinitario con altos niveles de producción y con una aparente resistencia a las enfermedades (Quiroz, 2006). Lo que va provocando la pérdida de diversidad, especialmente de genes que expresan la calidad.

Existen pocos reportes de control biológico de patógenos en cacao, especies endofíticas se mencionan con gran potencial. Bacterias como *Pseudomona aeruginosa*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Bacillus subtilis*, *P. cepacia* han sido evaluadas ampliamente en el control de Moniliasis. Los hongos *Cladobotryum amazonense*, *Hypomyces* spp, *Verticillium lecanii*, *Penicillium* spp, *Clonostachys* spp, *Trichoderma* spp, *Aspergillus niger*, *Acremonium* spp, *Didymella* spp, *Nectria* spp, *Didymostilbe* spp se han identificado como antagonistas de enfermedades del cacao (Krauss y Soberanis, 2003; Suárez 2006;). *T. stromaticum* es usado en Brasil para controlar *C. pernicioso*, evita la formación de basidiocarpos (Samuels *et al.*, 2001) parasita hifas de *C. pernicioso* en el interior de las escobas secas. En Ecuador, el INIAP ha seleccionado microorganismos antagónicos a *M. roreri* y *C. pernicioso*. De éstos, *T. koningiopsis* (Suárez 2006) y *T. stromaticum* son las especies más promisorias para el control de enfermedades de la mazorca de cacao.

La acción de *Trichoderma* como micoparásito natural se demostró por Weindling en 1932, y su utilización en experimentos de control biológico se implementó a partir de 1970, cuando se incrementaron los estudios de campo para su uso en cultivos de hortalizas y ornamentales (Arias, 2004). No obstante, la información sobre su empleo en la producción agrícola es insuficiente y dispersa.

La búsqueda de alternativas, mediante selección y reintroducción de microorganismos antagónicos a *M. royeri*, constituye una atractiva solución presentando riesgos menores que los derivados por fungicidas, afectando de menor manera a enemigos naturales y causando mínimas alteraciones al medio ambiente.

Para contribuir con el manejo integrado de *M. royeri*, se propone como trabajo de investigación el poder evaluar cuatro dosis de *Trichoderma harzianum* para su control a nivel de campo.

4. OBJETIVOS

4.1 GENERAL

- Evaluación de *Trichoderma harzianum* para el control de *Moniliophthora roreri* en Cacao, bajo condiciones de campo

4.2 ESPECÍFICOS

- Medir el daño causado por *M. roreri* en las mazorcas de cacao para cada uno de los tratamientos a evaluar
- Cuantificar la producción de Cacao para cada uno de los tratamientos.
- Determinar la rentabilidad de cada uno de los tratamientos.

5. HIPÓTESIS

5.1 HIPÓTESIS ALTERNA

- Al menos una de las dosis de *Trichoderma harzianum* a evaluar mostrará diferencia estadística significativa en el porcentaje de daño de *Moniliophthora roreri*
- Al menos una de las dosis de *Trichoderma harzianum* a evaluar mostrará diferencia estadística significativa en el porcentaje de severidad externa e interna de *Moniliophthora roreri*.
- Al menos uno de los rendimientos a evaluar tendrá diferencia estadística significativa en el rendimiento de almendra en kg/ha.

6. METODOLOGÍA

6.1 LOCALIZACIÓN DEL ÁREA DE TRABAJO

El presente estudio se realizó en la finca Honduras, Aldea el Amparo la cual pertenece al municipio de El Tumbador, San Marcos, se ubica al sur-oeste del municipio a una distancia de 7 kilómetros a una altura de 550 metros sobre el nivel del mar, situada a 14° 37` 01" Latitud Norte y a -91° 44` 36" Longitud Oeste. Se encuentra localizado a 65 kilómetros de la cabecera departamental y 258 kilómetros de la ciudad capital y se comunica con ella por la carretera internacional CA-2.

Según Holdridge, citado por De La Cruz. (1982), indica que el área donde se realizó el estudio se encuentra en una zona de vida: bosque muy húmedo sub tropical cálido bmh-S(c), con temperaturas que varían de 19 a 28°C con una temperatura media anual de 24 °C. El registro de precipitación marca 3,900 mm, humedad relativa media del 85% anual y con una evapotranspiración potencial de 0.45.

Según Simmons, Tárano y Pinto (1959), los suelos pertenecen al declive del pacífico, son suelos que se han desarrollado sobre materiales volcánicos de color claro en relieves suavemente inclinados. A este respecto el mapa de suelos indica que pertenecen a la serie Retalhuleu, son suelos bien drenados, excepcionalmente profundos, desarrollados sobre ceniza volcánica, de color claro. Ocupan relieves ondulados a altitudes bajas en el suroeste de Guatemala. Están asociados con los suelos de la serie Ixtán arcilla.

6.2 MATERIAL EXPERIMENTAL

Como material experimental se utilizó una plantación de Cacao criollo tipo cundeamor y el hongo entomopatógeno *Trichoderma harzianum*, formulado comercialmente como Excalibur Gold®.

6.3 FACTORES A ESTUDIAR

Los factores estudiados fueron cuatro dosis del hongo *Trichoderma harzianum*.

6.4 DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS

Los tratamientos evaluados se describen en el cuadro siguiente:

Cuadro 1. Tratamientos de *Trichoderma harzianum*

Tratamiento	Dosis/ha	UFC/ha	Frecuencia de aplicación
T1	150 gr	1.5×10^{14}	Cada 15 días
T2	300 gr	3.0×10^{14}	Cada 15 días
T3	450 gr	4.5×10^{14}	Cada 15 días
T4	600 gr	6.0×10^{14}	Cada 15 días

Las dosis fueron definidas por los resultados obtenidos por Krauss *et al.* (2003), utilizando 150 gr/ha de *Trichoderma*, 1×10^{12} UFC/gr.

6.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño bloques al azar con 4 tratamientos y 5 repeticiones

6.6 MODELO ESTADÍSTICO

$$Y_{ij} = \mu + \beta_i + T_j + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable de respuesta asociada a la ij-ésima dosis de *Trichoderma harzianum*.

μ = es la medida del nivel medio de todos los resultados.

β_i = Efecto de la i-ésima repetición.

T_j = Efecto de la j-ésima dosis *Trichoderma harzianum* para el control de *Moniliophthora roreri*.

ε_{ij} = Error aleatorio atribuible a la medición, correspondiente al tratamiento y a la repetición.

6.7 UNIDAD EXPERIMENTAL

La unidad experimental estuvo constituida por una parcela bruta y una parcela neta. La parcela bruta fue de 15 árboles, de los cuales se tomaron los 3 centrales y en ellos se

realizaron las mediciones. El área experimental ocupó un total de 540 árboles, en un área de 9000 m²

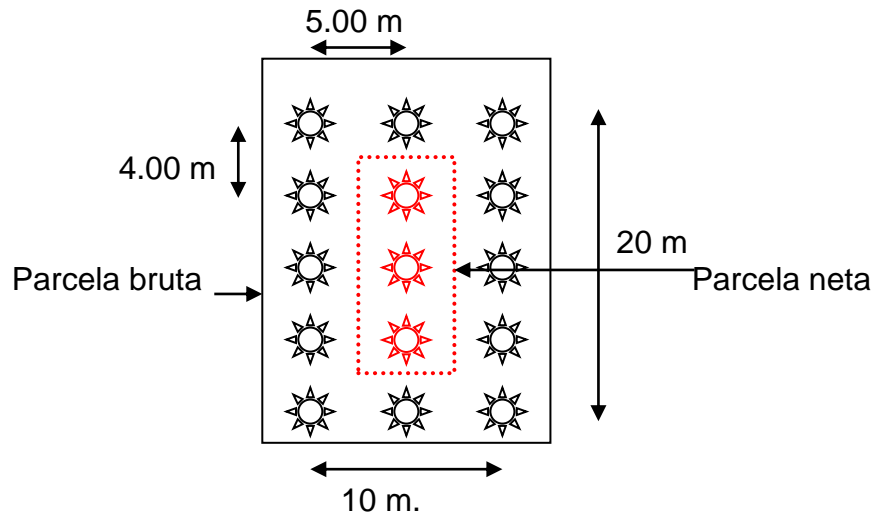


Figura 4. Unidad experimental

6.8 MANEJO DEL EXPERIMENTO

6.8.1 Delimitación del área

Se realizaron las mediciones e identificación de las unidades experimentales, la parcela bruta estuvo formada por 15 árboles y la parcela neta constituidas por los tres árboles centrales a un distanciamiento de 4 metros cada uno.

6.8.2 Establecimiento de bloques

Los tratamientos ya aleatorizados dentro de cada bloque, se establecieron en el campo de acuerdo al croquis propuesto en esta investigación (Ver Anexo).

6.8.3 Realización de podas y regularización de sombra

Se realizaron podas de formación, de mantenimiento, de saneamiento y se regularizo la sombra hasta un 25% según en toda la plantación de cacao.

Además, durante el tiempo que duro el experimento se efectuaron podas de mantenimiento cada 2 meses; según cronograma de actividades de la finca. Las podas

de saneamiento o eliminación de frutos enfermos en los tratamientos se realizaron cada 8 días. Para todos los tratamientos el mismo día.

6.8.4 Aplicación de *Trichoderma harzianum*

Las aplicaciones de *Trichoderma harzianum* en las unidades experimentales correspondientes se realizaron cada 15 días de acuerdo a la calendarización; las dosis aplicadas fueron de 150, 300, 450 y 600 gramos por hectárea, se utilizó una asperjadora manual (boquilla de cono hueco) de 16 litros de capacidad, la aplicación se hizo en todo el árbol hasta punto de goteo.

6.8.5 Cosecha

Se realizó de acuerdo a las características del cultivo, con la ayuda del propietario de la plantación cada ocho días, durante los meses de mayo a julio del año 2016.

6.8.6 Conteo de mazorcas cosechadas sanas

Las mazorcas cosechadas fueron contadas por árbol y por unidad experimental, luego se realizaron los análisis correspondientes.

6.9 VARIABLES DE RESPUESTA

Se llevó un registro semanal de la incidencia y severidad externa de la enfermedad, a partir de la aparición de los primeros síntomas, durante un período de 6 semanas.

6.9.1 Daño de *Moniliophthora roreri*

a. Porcentaje de severidad

La severidad externa se evaluó cuando los frutos alcanzaron madurez de cosecha. Primero en base en el porcentaje de tejido afectado en el fruto y luego mediante la sumatoria de los grados de daño en porcentaje sobre el número total de datos por el mayor dato del porcentaje de severidad, utilizando la escala siguiente:

Cuadro 2. Escala de severidad externa en base a tejido afectado en el fruto de cacao.

Porcentaje de tejido afectado	Grado de daño
Fruto sano	0
1- 25% de protuberancias	1
26 – 50% inicio de mancha	2
51 – 75% mancha	3
76 – 100% esporulación	4

Fuente: Cárdenas y Giraldo (1986).

Cuando los frutos alcanzaron madurez de cosecha se abrieron longitudinalmente para determinar la severidad interna, la que se expresó en términos de porcentaje de daño, empleando la escala en grados y porcentaje de daño de acuerdo al siguiente cuadro:

Cuadro 3. Escala de severidad interna en base a tejido afectado en el fruto de cacao.

Porcentaje de tejido afectado	Grado de daño
0% de daño	0
1- 20% de daño	1
21 – 40% daño	2
41 – 60% daño	3
61 – 80% daño	4
81 – 100% de daño	5

Fuente: Jaimes y Aranzazu, (2010).

b. Porcentaje de incidencia

La incidencia de la enfermedad en cada semana se calculó en porcentaje mediante la fórmula de Arguello (2000), contando el número de frutos con el síntoma de la enfermedad.

$$\% \text{ Incidencia} = \frac{\text{No. frutos sanos} - \text{No. frutos enfermos}}{\text{No. Total de frutos.}} \times 100$$

6.9.2 Producción

a. Número de frutos por planta

Se determinó mediante el conteo mecánico de los frutos producidos por planta, indistintamente que fueran frutos sanos o frutos enfermos.

b. Rendimiento en Kg/ha

Los frutos sanos cosechados de cada unidad experimental se pesaron y en función de la media de producción se proyectó el rendimiento de kilogramos de frutos/ha y de acuerdo a la conversión que se tuvo en la finca se calculó el rendimiento de grano seco/ha.

6.10 ANÁLISIS DE INFORMACIÓN

6.10.1 Análisis estadístico

Para el análisis de la información de las variables de estudio se utilizó el método de análisis de varianza (ANDEVA) a un nivel de significancia del 5%; para los resultados que mostraron diferencia estadística significativa se les realizó comparación múltiple de medias utilizando el comparador de medias de Tukey (0.05).

6.10.2 Análisis económico

Debido a que en los resultados de cada uno de los tratamientos se obtuvieron rendimientos en kilogramos por hectárea, se realizó un análisis de rentabilidad.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los registros obtenidos semanalmente de la severidad e incidencia externa como interna de la enfermedad, a partir de la aparición de los primeros síntomas, durante un período de seis semanas. Analizando aspectos de producción como también de la información estadística y económica.

Se presenta el análisis de resultados y discusión en los siguientes cuadros.

7.1 DAÑO DE *Moniliophthora roreri*

a. Porcentaje de severidad externa

La severidad externa se evaluó cuando los frutos alcanzaron la madurez de cosecha. Primero con base en el porcentaje de tejido afectado en el fruto, y luego mediante la sumatoria de los grados de daño en porcentaje sobre el número total de datos por el mayor dato del porcentaje de severidad. El resultado del análisis de varianza se presenta en el cuadro 4. (Ver anexo datos reales)

Cuadro 4. Análisis de varianza del porcentaje de severidad externa en frutos maduros de cacao causada por *Moniliophthora roreri* (Ver Anexos datos transformados).

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	3	160.861328	53.638941	92.6636	<0.001*
Repeticiones	4	0.728516	0.178429	0.3083	0.867 ^{ns}
Error	12	6.851563	0.578864		
Total	19	168.441406			

C. V. 2.97%

Los resultados del análisis de varianza del cuadro 4 muestran que existe diferencia estadística significativa entre tratamientos a un nivel de significancia del 5%, por lo que

se realizó comparación de medias mediante prueba de Tukey, la comparación de medias se muestra en el cuadro 5.

Cuadro 5. Prueba de Tukey a los diferentes tratamientos sobre porcentaje de severidad externa en frutos maduros de cacao causada por *Moniliophthora roreri* (Ver Anexos datos transformados).

Tratamiento	Media
300 gr/ha	28.7060 A
600 gr/ha	27.0320 B
150 gr/ha	25.6320 B
450 gr/ha	21.0740 C

Tukey = 1.4291

El mejor tratamiento para el control de *M roreri* en la presente evaluación fue la aspersión de las plantas de cacao con la dosis 450 gramos de con 4.5×10^{14} UFC/ha del hongo *Trichoderma harzianum* con una frecuencia de aplicación de 15 días, los resultados obtenidos mostraron que solo se tuvo un 21.0740% de severidad externa del patógeno.

Los tratamientos donde se asperjaron las dosis de 600 y 150 gr/ha estadísticamente mostraron resultados similares en el control del patógeno, pero al analizar los porcentajes de infección por separado, se tuvo que la aplicación de la dosis 600 gr con 6.0×10^{14} UFC/ha del hongo *Trichoderma harzianum* permitió una severidad externa de 27.0320%.

La dosis donde se utilizaron 150 gramos con 1.5×10^{14} UFC/ha permitieron una severidad externa del 25.6320% siendo estos dos tratamientos la segunda opción en el control del patógeno *Moniliophthora roreri* a nivel de campo.

La dosis donde se utilizó 300 gr con 3.0×10^{14} UFC/ha en la presente evaluación fue la que permitió la mayor severidad externa con 28.7060%.

El hongo *Trichoderma* sp. produce enzimas como viridin, trichodermin, exo y endogluconasas, celobiasas, quitinazas y el compuesto 6-pentyl- α - pirona (6PAP), que presenta actividad antifúngica (Martínez, 2013). Por su parte, Mejía (2008) y López (2009) encontraron que *Trichoderma* sp. mostró ser parásito de hifas de *Moniliophthora* spp. y *Phytophthora* spp., reportándose como posible agente de control de estos fitopatógenos del cacao. evidenciaron el alto potencial antagónico de *Trichoderma* spp., como micoparásito, al penetrar y causar lisis del micelio de estos.

b. Porcentaje de severidad interna

Cuando los frutos alcanzaron la madurez de cosecha se abrieron longitudinalmente para determinar la severidad interna, la que se expresó en términos de porcentaje de daño, los resultados obtenidos se presentan en el cuadro 6. (Ver anexo datos reales)

Cuadro 6. Análisis de varianza para el porcentaje de severidad interna en frutos maduros de cacao causada por *Moniliophthora roreri* (Ver Anexos datos transformados).

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	3	25.023438	8.341146	3.2868	0.058 ^{ns}
Repeticiones	4	26.921875	6.730469	2.6521	0.085 ^{ns}
Error	12	30.453125	2.537760		
Total	19	82.398438			

C.V. = 2.19%

El análisis de varianza para el porcentaje de severidad interna de frutos de cacao que fueron asperjados con el hongo antagonista *Trichoderma harzianum* cada 15 días, no

mostro diferencia estadística significativa entre tratamientos por lo que el grado de infección interna igual en todos los tratamientos, por lo que no fue necesario realizar comparación de medias

De acuerdo al comportamiento de la infección interna, se pudo observar que el daño externo es caracterizado por una necrosis, deformación y pudrición en mazorcas, aunque algunos frutos completaron su desarrollo sin síntomas externos, pero con el tejido interno necrosado, resultados parecidos a los obtenidos por Reuck (1997). Esto conlleva a la muerte del fruto, con un color café oscuro, para luego cubrirse de una “lana” de color crema, que son las esporas del hongo

Los daños internos causado por la enfermedad pueden ser más grave que el externo, pudiendo llegar a perderse casi todas las almendras, sin importar la edad del fruto (FHIA, 2003). Los tejidos centrales, pulpa, semillas y algunas veces la cáscara, forman una sola masa en donde los tejidos son rodeados por una sustancia acuosa debido a la descomposición de ellos, siendo también las almendras destruidas parcial o completamente, dependiendo del tiempo de infestación de los frutos (IICA, 2006). Un síntoma adicional es la llamada madurez prematura, donde las mazorcas cambian de color dando la apariencia de madurez en frutos que todavía están inmaduros (FHIA, 2003).

c. Porcentaje de incidencia externa

Cuadro 7. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* sobre la incidencia externa de moniliasis en frutos de cacao (Ver Anexos datos transformados).

Tratamiento	Incidencia externa (%)/semana					
	1	2	3	4	5	6
150 gr	2.5640 ^B	2.8625 ^B	4.9375 ^C	6.9625 ^B	8.5125 ^C	12.7955 ^B
300 gr	2.3860 ^B	2.8250 ^B	4.0375 ^B	6.4000 ^B	7.1625 ^B	11.9752 ^B
450 gr	1.3400 ^A	1.8625 ^A	2.7875 ^A	4.3625 ^A	5.100 ^A	7.8826 ^A
600 gr	1.4700 ^A	1.7250 ^A	2.7125 ^A	3.7625 ^A	4.3375 ^A	8.3612 ^A

El comportamiento del porcentaje de incidencia externa se determinó llevando un registro semanal de la enfermedad, a partir de la aparición de los primeros síntomas, durante un período de 6 semanas, La incidencia de la enfermedad en cada semana se calculó en porcentaje mediante la fórmula de Arguello (2000), contando el número de frutos con el síntoma de la enfermedad.

En el cuadro 7 se puede apreciar el porcentaje de incidencia externa. De acuerdo al muestreo en cada semana, los resultados analizados mostraron durante las 6 semanas 2 grupos, donde las dosis 450 y 600 gramos con 4.5×10^{14} UFC/ha y 6.0×10^{14} UFC/ha del hongo *Trichoderma harzianum* a una frecuencia de aplicación a cada 15 días, estos dos tratamientos tuvieron porcentajes de incidencia similares. Los tratamientos de 150 y 300 gr/ha presentaron porcentajes de incidencia del patógeno similares permitiendo los mayores porcentajes, La curva del comportamiento del porcentaje de incidencia se muestra en la figura 5.

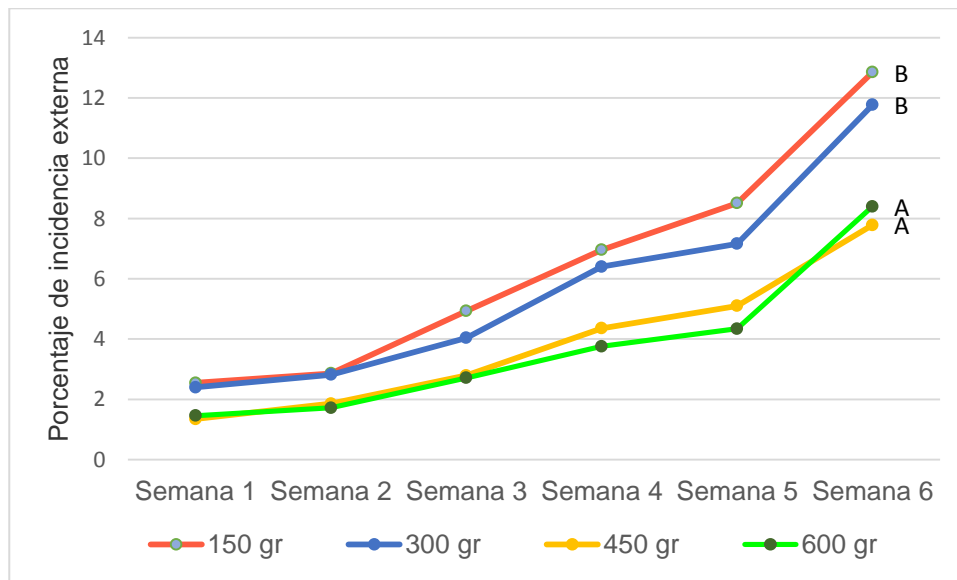


Figura 5. Porcentaje de incidencia externa del hongo *Moniliophthora roreri*.

Calculado durante seis semanas en frutos de cacao. Tratados con 4 dosis del hongo antagonista *Trichoderma harzianum*. Valores con la misma letra, indican que los tratamientos son estadísticamente iguales, de acuerdo con la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

La comparación múltiple de medias a través de la prueba de Tukey para el porcentaje de incidencia externa de *M. royeri*, mostro que los tratamientos donde se asperjaron 450 y 600 gramos por hectárea de *Trichoderma harzianum* presentan resultados similares y fueron los mejores tratamientos para reducir la incidencia del patógeno. Las dosis 150 y 300 gr/ha son la segunda opción de acuerdo a la separación de medias, el comportamiento del control de cada uno de los tratamientos puede verse en la curva de comportamiento de la incidencia externa en la figura 5.

El coeficiente de variabilidad indicó una variación relativamente baja para condiciones de campo.

Los frutos inoculados con *Trichoderma harzianum*, con dosis de 450 y 600 gr mostraron durante las 6 semanas una disminución considerable en la esporulación del hongo, por lo que al final de la evaluación, estos 2 tratamientos fueron los que permitieron la menor incidencia del patógeno. Estos resultados se corroboran con lo expuesto por Torres (2010), quien afirma que un antagonista que inhiba crecimiento micelial, puede reducir la capacidad de *M. royeri* para infectar el tejido de la planta y causar la enfermedad. Al respecto, Sánchez (2005) informó que *Trichoderma* sp., presenta alta actividad competitiva frente a *M. royeri*, lo que tiene importancia especialmente en la fase saprofita ya que impide su desarrollo en el mismo sustrato.

El comportamiento del patógeno al aplicar las dosis de 150 y 300 gr permitieron la mayor incidencia de *M. royeri* en frutos. La tendencia de la incidencia externa del patógeno a través del tiempo mostró que el menor porcentaje de expresión de incidencia externa de *M. royeri* durante las seis semanas del experimento fue la dosis de 450 gr con 4.5×10^{14} UFC/ha, etapa en la que los porcentajes de incidencia fueron significativamente los más bajos.

Los cuatro tratamientos evaluados reducen las poblaciones infecciosas del patógeno permitiendo con la dosis menos efectiva de 150 gr con 1.5×10^{14} UFC/ha una incidencia del 12.85%. Estos resultados concuerdan con lo expuesto por Krauss *et al.* (2010) quienes mencionan que bioensayos realizados con *Trichoderma* sp. han sido

efectivos y que, por su naturaleza, el control biológico no elimina, sino que reduce las poblaciones del patógeno y, como consecuencia, reduce la incidencia de la enfermedad.

7.2 PRODUCCIÓN

a. Número de frutos por planta

Se determinó mediante el conteo mecánico de los frutos producidos por planta, indistintamente de que fueran frutos sanos o frutos enfermos, los resultados se presentan en el cuadro 8.

Cuadro 8. Análisis de varianza para la variable número de frutos cosechados por planta.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	3	2.950195	0.983398	1.2689	0.329 ^{ns}
Repeticiones	4	6.299805	1.574951	2.0322	0.153 ^{ns}
Error	12	9.299805	0.774984		
Total	19	18.549805			

C.V. = 5.29%

Los resultados del análisis de varianza del cuadro 8, mostró que para la variable número de frutos por árbol no se tuvo diferencia estadística significativa, por lo que la producción de frutos está determinada por factores genéticos por lo que los tratamientos no influyen sobre esta característica.

Debido a no existir diferencia estadística significativa no fue necesario realizar prueba múltiple de medias.

b. Rendimiento en Kg/ha

Los frutos sanos cosechados de cada unidad experimental se pesaron y en función de la media de producción se proyectó el rendimiento de kilogramos de frutos/ha y de

acuerdo a la conversión que se tuvo en la finca se realizó el rendimiento de grano seco/ha

Los rendimientos obtenidos en el campo se presentan en el cuadro 9.

Cuadro 9. Rendimiento de almendra de Cacao en kg/ha obtenidos en parcelas tratadas con 4 dosis de *Trichoderma harzianum* para control de *Moniliophthora roreri*.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	3	170478.000000	56826.000000	429.4156	0.000*
Repeticiones	4	3040.000000	760.000000	5.7431	0.08 ^{ns}
Error	12	1588.000000	132.333328		
Total	19	175106.000000			

C.V. = 1.21%

El análisis de varianza mostró que existe diferencia estadística significativa entre tratamientos por lo que se realizó comparación múltiple de medias a través de la prueba de Tukey, los resultados se presentan en el cuadro 10.

Cuadro 10. Prueba de Tukey al Rendimiento de almendra de Cacao en kg/ha obtenidos en parcelas tratadas con 4 dosis de *Trichoderma harzianum* para control de *Moniliophthora roreri*.

	Tratamiento	Media	
	Dosis 3	450 gr/ha	1077.40 A
	Dosis 4	600 gr/ha	988.00 B
	Dosis 2	300 gr/ha	907.80 C
	Dosis 1	150 gr//ha	829.00 D

Tukey = 21.6072

La prueba de Tukey realizada a los rendimientos de almendra de Cacao seca separa a los cuatro tratamientos de acuerdo a producción que se obtuvo de ellos. El tratamiento donde se utilizó 450 gr con 4.5×10^{14} UFC/ha del hongo antagonista *Trichoderma harzianum* para control de *Moniliophthora roreri*, tuvo un rendimiento medio de 1075.50 kg/ha, por lo que estadísticamente es el mejor tratamiento para el control del patógeno permitiendo obtener el mayor rendimiento.

El tratamiento donde se utilizó 600 gr con 6.5×10^{14} UFC/ha del hongo antagonista *Trichoderma harzianum* estadísticamente se ubicó como el segundo tratamiento que permitió obtener rendimientos medios de 987.5 kg/ha. Este tratamiento fue la dosis más alta que se evaluó sin embargo al analizar la incidencia externa y la severidad interna de *Moniliophthora roreri*, permite que la esporulación del patógeno, estadísticamente sean iguales.

El tratamiento donde se evaluó 300 gr/ha de *Trichoderma harzianum*, estadísticamente se ubica como la tercera opción con un rendimiento medio de 909.75 kg/ha y el menor rendimiento se obtuvo con el tratamiento que utilizó 150 gr/ha de *Trichoderma harzianum* con un rendimiento medio de 828.75 kg/ha. El comportamiento de la producción puede verificarse en la figura 6.

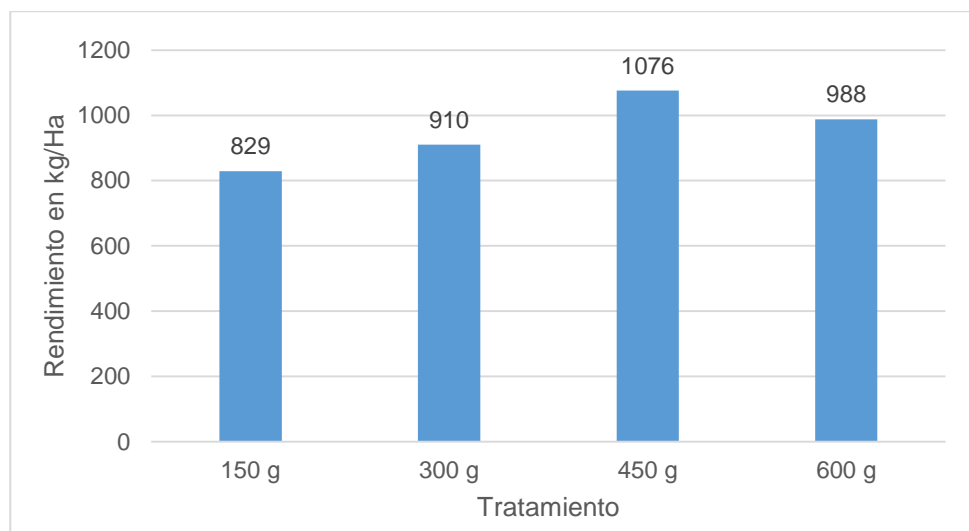


Figura 6. Comportamiento del rendimiento en kg/ha de almendra de Cacao seca en frutos tratados con 4 dosis del hongo antagonista *Trichoderma harzianum*.

La figura 6 muestra el comportamiento del rendimiento de almendra seca de Cacao de acuerdo a cada una de las dosis evaluadas, siendo el tratamiento donde se utilizó la dosis de 450 gr/ha la de mejor rendimiento, influenciando esta dosis sobre el menor daño de almendras obtenidas, esto debido a que se disminuyó la incidencia del patógeno, incrementando la producción de mazorcas sanas.

7.3 ANÁLISIS ECONÓMICO DE LOS TRATAMIENTOS

En función a la metodología del análisis del presupuesto, se calculó el beneficio que corresponde al rendimiento de almendra por el precio en finca de Q. 26.45/kg (Q.1200.00/qq) Además, se consideraron los costos y la diferencia como beneficio neto, los resultados de cada uno de los tratamientos se presentan en el cuadro 11.

Cuadro 11. Cálculo del presupuesto. Proyección de rendimientos y reducción de costos de la evaluación de 4 dosis de *Trichoderma harzianum* para el control de *Moniliophthora roreri*.

Concepto	Dosis de <i>Trichoderma harzianum</i> (gr/ha)			
	150	300	450	600
Rendimiento (kg/ha)	828.75	909.75	1075.50	987.50
Ingreso (Q)	745.87	818.77	967.95	888.75
Costos				
Trichoderma	Q.112.50	Q.225.00	Q.337.50	Q.450.00
Costo mano de obra	Q.450.00	Q.450.00	Q.450.00	Q.450.00
Total costos	Q.562.50	Q.675.00	Q.787.50	Q.900.00
Beneficio neto	Q.183.37	Q.143.77	Q.180.45	Q.-11.25
Rentabilidad %	32.60	21.30	22.91	-1.25 %

El tratamiento que mayor beneficio económico generó fue la aplicación de 150 gr con 1.5×10^{14} UFC/ha del hongo antagonista *Trichoderma harzianum* para control de *Moniliophthora roreri* con un beneficio neto de Q.183.37

Así, también es preciso indicar que, si se pretende determinar en base al total de costos, el tratamiento más económico para controlar la moniliasis en el campo se puede manifestar que es el tratamiento de 150 gr con 1.5×10^{14} UFC/ha del hongo antagonista *Trichoderma harzianum* para control de *Moniliophthora roreri* con un costo de Q 562.5/ha.



Figura 7. Curva de beneficios netos y costos para el análisis de dominancia.

En la figura 7, podemos ver la curva de beneficios netos la cual es la curva envolvente que se forma con los pares ordenados que muestran los mayores niveles de beneficios netos. Esta curva es la frontera que se forma con los tratamientos más rentables.

Una vez determinados los beneficios netos para cada tratamiento, se realizó el análisis de dominancia por lo que se clasifico cada tratamiento, ordenándolos de menor a mayor, en base a los costos, conjuntamente con sus respectivos beneficios netos. Moviéndose cada tratamiento de menor a mayor costo, por lo que se puede ver en el cuadro 11 como el incremento de la dosis incrementa los costos, este comportamiento revelo que el tratamiento donde se utilizó 600 gr/ha de *Trichoderma harzianum* para el control de *M. roreri* costó más que la anterior rindiendo un menor beneficio neto por lo que este es "dominado" y excluido del análisis. Los tratamientos de 150, 300 y 450 gr/ha no son dominados. De acuerdo a estos análisis económicamente se incluyen como recomendación las dosis de 150, 300 y 450 gr/ha.

8. CONCLUSIONES

- Las dosis de *Trichoderma harzianum* evaluadas para el control de *Moniliophthora roreri* presentaron diferencia entre ellas, para la variable de incidencia externa siendo de 7.88% (Dosis 450gr) y 8.36% (Dosis 600gr), por lo que estas disminuyeron el daño aceptándose la hipótesis alterna.
- Los porcentajes de severidad externa presentaron la menor virulencia de la enfermedad al aplicar la dosis de 450 gramos con 4.5×10^{14} UFC/ha del hongo *Trichoderma harzianum* a una frecuencia de aplicación a cada 15 días, permitiendo únicamente 21.0740% de severidad externa del patógeno *Moniliophthora roreri*.
- El análisis de varianza para el porcentaje de severidad interna de frutos de cacao que fueron asperjados con el hongo antagonista *Trichoderma harzianum*, no mostraron diferencia estadística.
- Los mejores rendimientos de semilla de Cacao se obtuvieron con el tratamiento donde se utilizó 450 gr con 4.5×10^{14} UFC/ha del hongo antagonista *Trichoderma harzianum* para control de *Moniliophthora roreri*, tuvo un rendimiento medio de 1075.50 kg/ha, por lo que estadísticamente fue el mejor tratamiento para el control del patógeno permitiendo obtener el mayor rendimiento.
- El tratamiento que generó la mayor rentabilidad económica, fue la aplicación de 300 gr con 3.0×10^{14} UFC/ha del hongo antagonista *Trichoderma harzianum* para control de *Moniliophthora roreri* con un beneficio neto parcial de Q.143.77

9. RECOMENDACIONES

- Utilizar la dosis de 300 gramos con 3.0×10^{14} UFC/ha del hongo *Trichoderma harzianum* a una frecuencia de aplicación de 15 días, ya que de acuerdo a los resultados de la evaluación permitió mantener la severidad externa de *Moniliophthora rorer*.
- Las potencialidades demostradas por el hongo antagonista *Trichoderma harzianum* sugieren la necesidad de continuar las evaluaciones a gran escala, en condiciones de campo.

10. BIBLIOGRAFÍA

- AGEXPRONT (2002). Manual del cultivo del cacao. Asociación Gremial de Exportadores de Productos no Tradicionales de Guatemala, GT. Guatemala. 81 p.
- Álvarez B., H. A. (2008). Eficiencia de cepas de *Trichoderma* sp. En el control de *Phyitium* sp. y *Rhizoctonia solani* en *Gypsophila paniculata*. p. 85-87
- Argüello, O. (2000). Manejo integrado de la monilia en cacao (*Theobroma cacao* L.). pp. 74-84. En: Mejía, L., O. Arguello (ed.). Tecnología para el mejoramiento del sistema de producción de cacao. CORPOICA. Impresores Colombianos, Bucaramanga. 144 p.
- Arias M. (2004). Hongos Antagonistas o micopatógenos. En: Guía de insumos biológicos para el Manejo Integrado de Plagas. Corporación para Desarrollo de Insumos y Servicios Agroecológicos Armonía. p. 59-62.
- Cárdenas, C y J. Giraldo. (1986). Evaluación de la respuesta de algunos cultivares del cacao (*Theobroma cacao* L.) a *Moniliophthora roreri* mediante dos métodos de inoculación en frutos y en semilla en estado radicular. Trabajo de grado Ingeniero Agrónomo. Facultad de Agronomía. Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. 107 p.
- CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza). (2005). El injerto en la producción de cacao orgánico (en línea). Costa Rica. Consultado 2 feb 2010. Disponible en: <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A1849E/A1849E.PDF>
- Ciferri, R., y Parodi, E. (1933). Descrizione del fungo che causa la "Moniliasi" del cacao. *Phytopathologische Zeitschrift* 6:539–542.

CONADEA-MAGA (2014). Diagnóstico de la cadena del Cacao. Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación, Guatemala.

Cruz S, J R De la. (1982). Clasificación de zonas de vida de Guatemala a nivel de reconocimiento; según sistema Holdridge. Guatemala, Instituto Nacional Forestal. p. 22-23.

Durango, W. (2001). Evaluación de fungicidas y biocontroladores en el manejo de enfermedades de la mazorca de cacao. Tesis, Ing. Agr. Universidad de Guayaquil, Ecuador. 69p.

Evans, H. C. (2007). Enfermedades del Cacao. Fitopatología 97: 1640-1643.

FHIA (Fundación Hondureña de Investigación Agrícola, HN). (2004). Identificación y control de la moniliasis del cacao (en línea). San Pedro Sula, Honduras. 24 p. Consultado 07 set 2006. Disponible en:

<http://www.fao.org/teca/system/files/MANUAL%20MONILIASIS%20DEL%20CACAO.pdf>

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

Garrido M. (2009) *Trichoderma*. [Consultado: 07 de Octubre de 2015]. Disponible en:

<http://miguelgarridorondoy.blogspot.com/2009/07/trichoderma.html>.

ITIS (2015a). *Moniliophthora roreri*. Obtenido el 10/18/2015, a partir del Sistema Integrado de Información Taxonómica base de datos en línea, <http://www.itis.gov>

- ITIS, (2015b). *Trichoderma harzianum*. Obtenido el 10/ 21/ 2015, a partir del Sistema Integrado de Información Taxonómica base de datos en línea, <http://www.itis.gov>
- Jaimes, Y. y F. Aranzazu. (2010). Manejo de las enfermedades del cacao (*Theobroma cacao* L.) en Colombia, con énfasis en monilia (*Moniliophthora roreri*). CORPOICA, Produmedios, Bogotá. 90 p.
- Krauss, U.; y Soberanis, W. (2003). Control Biológico de Monilia (*Moniliophthora roreri* (Cif. & Par) Evans et al.) para la rehabilitación de cacaotales en América Latina. Biol. Control. 22(2): 149 - 158.
- Martínez, B; (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. Protección Vegetal 28(1): 1-11
- Phillips-Mora W; (2007). Biodiversity and biogeography of the cacao (*Theobroma cacao*) pathogen *Moniliophthora roreri* in tropical America. Plant Pathology 56: 911–922
- Proyecto AdA (2014). Perfil comercial del Cacao, Proyecto AdA-Integración, Unión Europea, Ministerio de Relaciones Exteriores –MINEX- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación –MAGA- Guatemala.
- Quiroz, J. (2006). Avances en la selección de clones de cacao nacional adaptadas a las condiciones ambientales de la península de Santa Elena. Memoria de reunión técnica. Guayas, Ecuador.
- Reyes, P. (1980). Diseño de Experimentos Agrícolas, Editorial CECOSA, México.
- Samuels, G. J. (2001). *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. En: Micological vol. 100 (7-2), 1996. p. 923-935

SENASA (2006) Control moniliasis del cacao, Servicio Nacional de Sanidad Agraria, PE. (en línea). Perú. Consultado 15 agosto 2015. Disponible en: http://www.senasa.gob.pe/servicios/sanidad_vegetal/programas_fitosanitarios/ci_moniliasis_cacao/moniliasis_cacao.htm

Shaner, G. and R.E. Finney. (1977). The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology* 67: 1051-1056.

Simmons, CS; Tárano, JM; Pinto, JH. (1959). Clasificación de reconocimiento de los suelos de la república de Guatemala. Francis Gall (comp.). Guatemala, José De Pineda Ibarra. 1,000 p.

Shoresh, M., (2010). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Phytopathology* 48: 21-43.

Suárez, L. (2006). Aislamiento e identificación de *Moniliophthora roreri* causante de la moniliasis en municipios del nororiente colombiano y ensayos preliminares para su control biológico. *Revista Respuestas* 11(1): 3-9.

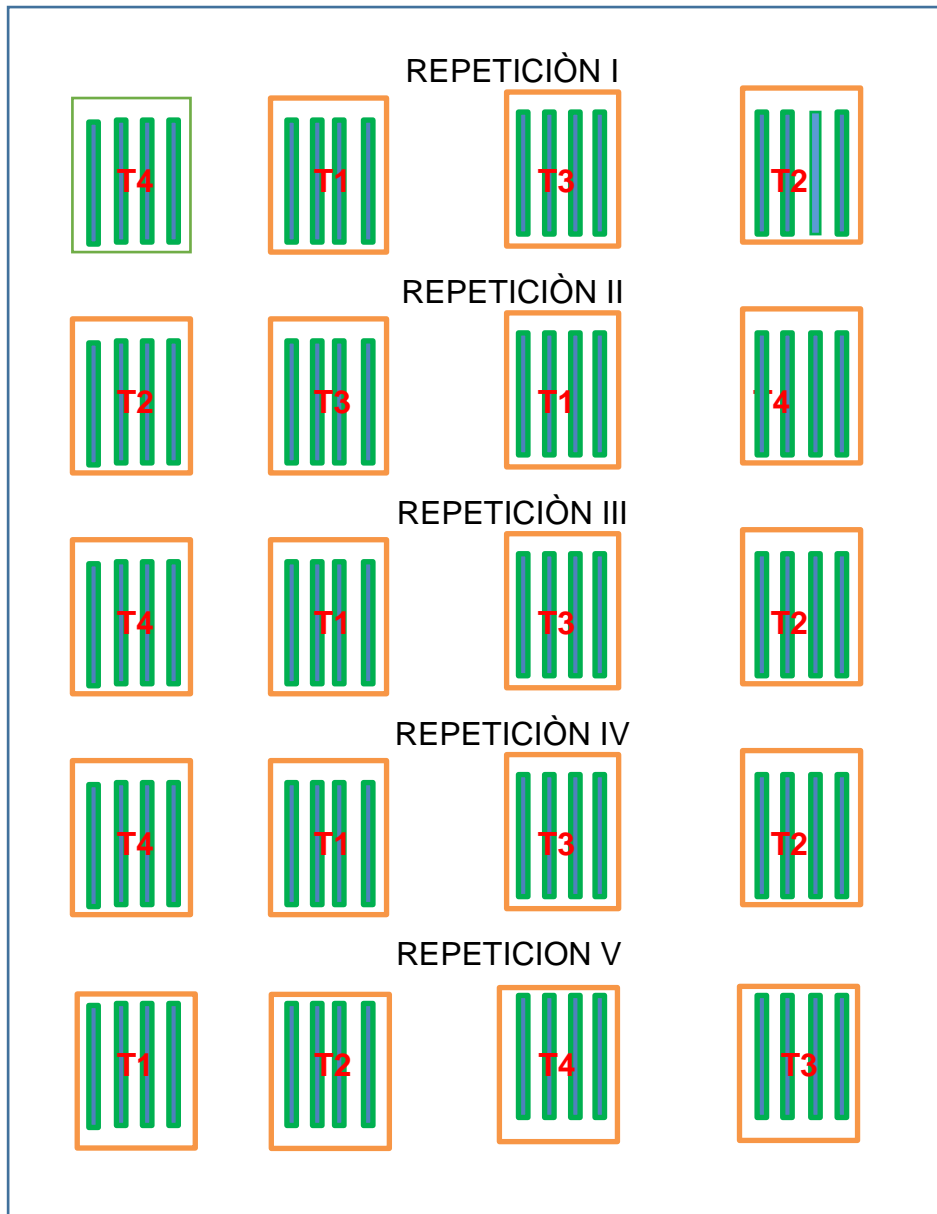
Villegas A, M. A. (2014). *Trichoderma pers.* Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible, *Fitopatólogo. Investigación Aplicada & Desarrollo ORIOUS BIOTECNOLOGÍA*, Colombia.

11. ANEXOS

11.1 CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES AÑO 2016

Actividad	MES						
	En	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul
Selección del área experimental							
Marcación de unidades experimentales							
adquisición de Trichoderma harzianum							
Preparación de tratamientos a aplicar							
Aplicación de tratamientos							
Limpia manual							
Podas							
Fertilización							
Practicás agronómicas del cultivo							
Control de plagas							
Muestreos							
Cosecha							
Tabulación de datos							
Análisis y discusión de datos							
Elaboración de informe							
presentación de informe final							

11.2 Croquis de campo



11.3 Datos evaluados

Variable: Porcentaje de severidad externa. Datos de campo.

TRATA.	Repeticiones					Media
	I	II	III	IV	V	
150 gr	18.5000	19.3500	17.7000	19.5000	18.5000	18.71
300 gr	22.7500	23.1000	24.0000	22.4000	23.1000	23.07
450 gr	13.5000	12.8000	11.9000	13.8000	12.8000	12.96
600 gr	20.3000	22.2500	21.5800	18.5000	20.3000	20.59

Datos de campo transformados $\arcsen(x/100)$ Reyes P. 1980

Tratamiento	Repeticiones					Media
	I	II	III	IV	V	
150 gr	25.4749	26.0965	24.8797	26.2052	25.4837	25.6280
300 gr	28.4877	28.7262	29.3339	28.2478	28.7693	28.7129
450 gr	21.5568	20.9634	20.1796	21.8071	20.8992	21.0812
600 gr	26.7793	28.1446	27.6806	25.4749	27.1001	27.0359

Variable: Porcentaje de severidad interna. Datos de campo.

TRATA.	Repeticiones					Media
	I	II	III	IV	V	
150 gr	90.7500	94.5000	91.7500	92.5000	92.3300	92.37
300 gr	91.5000	90.7000	93.8000	87.3000	90.6000	90.78
450 gr	89.9000	89.8000	93.7000	90.7500	89.8500	90.80
600 gr	87.7000	88.1000	92.1000	88.1000	90.1000	89.22

Datos transformados $\arcseno(\sqrt{x/100})$ Reyes P. 1980

Tratamientos	Repeticiones					Media
	I	II	III	IV	V	
150 gr	72.2937	76.4366	73.3079	73.9255	74.1058	74.0139
300 gr	73.0494	72.2443	75.5818	69.1225	74.4288	72.8853
450 gr	71.4698	71.3749	75.4634	72.2937	72.4048	72.6013
600 gr	69.4690	69.8204	73.6760	69.8204	71.6600	70.8891

Variable: Incidencia externa semana 1

Tratamientos	Repeticiones					Media
	I	II	III	IV	V	
150 gr	2.3500	2.7000	2.6000	2.5500	2.6200	2.5640
300 gr	2.2500	2.3000	2.4500	2.6000	2.3300	2.3860
450 gr	1.4000	1.5000	1.3000	1.2000	1.3000	1.3400
600 gr	1.3500	1.6500	1.5000	1.3500	1.5000	1.4700

Variable: Incidencia externa semana 6

Tratamientos	Repeticiones					Media
	I	II	III	IV	V	
150 gr	12.3553	13.8209	12.2552	13.0073	12.5392	12.7955
300 gr	12.1022	11.8345	11.2496	12.0101	11.9822	11.9751
450 gr	8.7513	6.5876	8.1158	7.7521	8.2064	7.8826
600 gr	9.1046	7.2576	8.1538	9.1182	8.1720	8.3612

Variable: No. de frutos por árbol

Tratamientos	Repeticiones					Media
	I	II	III	IV	V	
150 gr	17	16	15	18	16	16.4
300 gr	19	17	16	17	17	17.2
450 gr	15	16	17	17	16	16.2
600 gr	18	16	16	17	17	16.8

Variable: Rendimiento en kg/ha. Datos de campo.

Tratamiento	Repeticiones				Media
	I	II	III	IV	
150 gr	822.0000	849.0000	794.0000	850.0000	828.75
300 gr	890.0000	910.0000	914.0000	925.0000	909.75
450 gr	1050.0000	1090.0000	1075.0000	1087.0000	1075.50
600 gr	970.0000	1005.0000	980.0000	995.0000	987.50
