

**ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA
SANTO DOMINGO**

**“MEDIDAS DE CONTROL DE BAJO IMPACTO AMBIENTAL PARA
MITIGAR LA MONILIASIS (MoniliophthoralaroriCif y Par. Evans *et al.*)EN
CACAO HÍBRIDO NACIONAL X TRINITARIO EN SANTO DOMINGO DE
LOS TSÁCHILAS.”**

AUTORES

**ERICK EDUARDO ESTRELLA GUAYASAMÍN
JOSE GABRIEL CEDEÑO AGUILAR**

INFORME TÉCNICO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

SANTO DOMINGO – ECUADOR

2012

**ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA
SANTO DOMINGO**

**“MEDIDAS DE CONTROL DE BAJO IMPACTO AMBIENTAL PARA
MITIGAR LA MONILIASIS (MoniliophthororeriCif y Par. Evans *et al.*)EN
CACAO HÍBRIDO NACIONAL X TRINITARIO EN SANTO DOMINGO DE
LOS TSÁCHILAS.”**

**ERICK EDUARDO ESTRELLA GUAYASAMÍN
JOSE GABRIEL CEDEÑO AGUILAR**

**INFORME DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PRESENTADO COMO
REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO
AGROPECUARIO.**

SANTO DOMINGO – ECUADOR

2012

**“MEDIDAS DE CONTROL DE BAJO IMPACTO AMBIENTAL PARA
MITIGAR LA MONILIASIS (*Moniliophthororeri*Cif y Par. Evans *et al.*)EN
CACAO HÍBRIDO NACIONAL X TRINITARIO EN SANTO DOMINGO DE
LOS TSÁCHILAS.”**

**ERICK EDUARDO ESTRELLA GUAYASAMÍN
JOSE GABRIEL CEDEÑO AGUILAR**

REVISADO Y APROBADO

**ING. VICENTE ANZULES.
DIRECTOR DE CARRERA
INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**PhD. Ing. CESAR FALCONÌ
DIRECTOR**

**Mg. Ing. GUSTAVO NUÑEZ
CODIRECTOR**

**Ing. VINICIO UDAY
BIOMETRISTA**

**CERTIFICO QUE ESTE TRABAJO FUE PRESENTADO EN ORIGINAL
(EN MEDIO MAGNETICO) E IMPRESO EN DOS EJEMPLARES.**

**DR. RAMIRO CUEVA
SECRETARIO ACADÉMICO**

**“MEDIDAS DE CONTROL DE BAJO IMPACTO AMBIENTAL PARA
MITIGAR LA MONILIASIS (*Moniliophthororeri*Cif y Par. Evans *et al.*)EN
CACAO HÍBRIDO NACIONAL X TRINITARIO EN SANTO DOMINGO DE
LOS TSÁCHILAS.”**

ERICK EDUARDO ESTRELLA GUAYASAMÍN

**APROBADO POR LOS SEÑORES MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE
CALIFICACIÓN DEL INFORME TÉCNICO.**

	CALIFICACIÓN	FECHA
PhD. Ing. CESAR FALCONÍ DIRECTOR	_____	_____
Mg. Ing. GUSTAVO NUÑEZ CODIRECTOR	_____	_____

**CERTIFICO QUE ESTAS CALIFICACIONES FUERON PRESENTADAS EN
ESTA SECRETARIA.**

**DR. RAMIRO CUEVA
SECRETARIO ACADÉMICO**

**“MEDIDAS DE CONTROL DE BAJO IMPACTO AMBIENTAL PARA
MITIGAR LA MONILIASIS (*Moniliophthororeri*Cif y Par. Evans *et al.*)EN
CACAO HÍBRIDO NACIONAL X TRINITARIO EN SANTO DOMINGO DE
LOS TSÁCHILAS.”**

JOSÉ GABRIEL CEDEÑO AGUILAR

**APROBADO POR LOS SEÑORES MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE
CALIFICACIÓN DEL INFORME TÉCNICO.**

	CALIFICACIÓN	FECHA
PhD. Ing. CESAR FALCONÍ DIRECTOR	_____	_____
Mg. Ing. GUSTAVO NUÑEZ CODIRECTOR	_____	_____

**CERTIFICO QUE ESTAS CALIFICACIONES FUERON PRESENTADAS EN
ESTA SECRETARIA.**

**DR. RAMIRO CUEVA
SECRETARIO ACADÉMICO**

CERTIFICACIÓN

PhD. Ing. CESAR FALCONÍ
DIRECTOR

Mg. Ing. GUSTAVO NUÑEZ
CODIRECTOR

Certifican:

Que el trabajo titulado “MEDIDAS DE CONTROL DE BAJO IMPACTO AMBIENTAL PARA MITIGAR LA MONILIASIS (*Moniliophthora roreri* Cif y Par. Evans *et al.*) EN CACAO HÍBRIDO NACIONAL X TRINITARIO EN SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS.”, realizado por Erick Estrella y José Cedeño, ha sido guiado y revisado periódicamente y cumple normas estatutarias establecidas por la ESPE, en el Reglamento de Estudiantes de la Escuela Politécnica del Ejército.

Debido a la importancia de esta investigación para dar a conocer nuevas alternativas de control para mitigar la moniliasis, se recomienda su publicación.

El mencionado trabajo consta de (dos) documentos empastados y (dos) discos compactos los cuales contienen los archivos en formato portátil de Acrobat(pdf). Autorizan a Erick Estrella y José Cedeño que lo entregue al Ing. Vicente Anzules, en su calidad de Coordinador de la Carrera.

Santo Domingo, 29 de agosto del 2012

DECLARACION DE RESPONSABILIDAD

ERICK EDUARDO ESTRELLA GUAYASAMÍN

JOSÉ GABRIEL CEDEÑO AGUILAR

Declaramos que:

El proyecto de grado denominado “MEDIDAS DE CONTROL DE BAJO IMPACTO AMBIENTAL PARA MITIGAR LA MONILIASIS (*Moniliophthora roreri* Cif y Par. Evans *et al.*) EN CACAO HÍBRIDO NACIONAL X TRINITARIO EN SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS.”, ha sido desarrollado con base a una investigación exhaustiva, respetando derechos intelectuales de terceros, conforme a las citas que constan al pie de las páginas correspondientes, cuyas fuentes se incorporan en la bibliografía. Consecuentemente este trabajo es de nuestra autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance científico del proyecto de grado en mención.

Santo Domingo, 29 de agosto del 2012

ERICK E. ESTRELLA G.

JOSÉ G. CEDEÑO A.

AUTORIZACIÓN

Nosotros, ERICK EDUARDO ESTRELLA GUAYASAMIN Y JOSE GABRIEL
CEDEÑO AGUILAR

Autorizo a la Escuela Politécnica del Ejército la publicación, en la biblioteca virtual de la Institución del trabajo “MEDIDAS DE CONTROL DE BAJO IMPACTO AMBIENTAL PARA MITIGAR LA MONILIASIS (*Moniliophthora roreri* Cif y Par. Evans *et al.*) EN CACAO HÍBRIDO NACIONAL X TRINITARIO EN SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS.”, cuyo contenido, ideas y criterios son de nuestra exclusiva responsabilidad y autoría.

Santo Domingo, 29 de agosto del 2012

ERICK E. ESTRELLA G.

JOSÉ G. CEDEÑO A.

DEDICATORIA

La presente tesis va dedicado principalmente a ti Dios
mi padre celestial que me diste la oportunidad de
vivir y me regalaste una familia maravillosa.

A mis padres Dr. Marcelo Estrella y Arq. Jessy Guayasamín
por darme una carrerapara mi futuro y por creer en mí.

A mi querido hijo Erick F. Estrella V. y mí adorada esposa
Jessica Villavicencio por estar siempre conmigo apoyándome y
brindándome la fuerza necesaria para continuar.

A mis hermanos y mis familiares de los que siempre
recibí palabras de aliento y quienes pusieron toda su confianza y
apoyo en mí para la realización y finalización de mi
carrera universitaria.

Al Sr. Tomas Cedeño propietario de la Finca Colinas Garyth,
quien nos apoyo y confió en nosotros su plantación
la cual aporta con el progreso de nuestro país.

Erick Estrella G.

DEDICATORIA

A Dios creador, que me ha permitido culminar una fase más de mi vida asimilando muchas enseñanzas en su trayectoria.

A mis amados padres Tomas Cedeño y Nelly Aguilar, quienes han sido la base fundamental de mis éxitos, ya que supieron entregarme la oportunidad de crecer en todos los ámbitos y con ello la fortaleza y la sabiduría para ser cada día mejor persona.

A mis amados hijos Leandro y Víctor quienes se han convertido en la inspiración para nunca desmayar y junto a ellos a mi amada esposa Alison, quien ha sido el apoyo incondicional que siempre alimenta las esperanzas de un mejor mañana.

A mis queridos hermanos, quienes alimentan en mí la motivación de ver la superación no solo como un logro personal, sino más bien de manera integral con todas las personas que, de manera directa o indirecta influyen en nuestras vidas.

Finalmente a todos mis entrañables maestros y amigos que compartieron conmigo la convivencia de toda una vida de estudio y aprendizaje.

José Cedeño A.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a la Finca Garyth, por habernos permitido realizar este trabajo de investigación y por toda la colaboración brindada por su propietario el Sr. Tomás Cedeño.

Al PhD. Ing. Cesar Falconí, Mg. Ing. Gustavo Nuñez y Ing. Vinicio Uday, por su constante asesoramiento técnico y los consejos brindados como director, codirector y biometrista de tesis de grado antes, durante y después de la realización del presente trabajo de investigación.

Agradecemos también a la COMPAÑÍA ESPAÑOLA DE AGROQUÍMICOS S.A. (CODA), actualmente denominada SUSTAINABLE AGRO SOLUTIONS, S.A (SAS), quien nos facilitó los productos CODAPHOS Ca y CODAPHOS Zn, para realizar nuestra investigación.

Así mismo agradezco la gran colaboración brindada por los miembros de la Escuela Politécnica del Ejercito – IASA I y II, por su colaboración y aporte a nuestra investigación

CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CUADROS	XVI
ÍNDICE DE FIGURAS	XVIII
ÍNDICE DE ANEXOS	110
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 OBJETIVO GENERAL	4
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
II. REVISIÓN DE LITERATURA	6
2.1 EL CULTIVO DE CACAO	6
2.1.1 Generalidades	6
2.1.2 Producción	6
1. <u>Superficie, producción y rendimiento a nivel provincial</u> <u>2010</u>	9
2. <u>Promedio de rendimientos x hectárea</u>	10
2.2 ECOLOGÍA DEL CULTIVO DE CACAO	10
2.3 ENFERMEDADES DEL CULTIVO DE CACAO	11
2.4 MONILIASIS	13
2.4.1 <u>Historia y distribución geográfica</u>	13
2.4.2 <u>Morfología y Fisiología del Hongo</u>	14
2.4.3 <u>Impacto Económico</u>	16
2.4.4 <u>Taxonomía</u>	17
2.4.5 <u>Hospederos</u>	18
2.4.6 <u>Ciclo de Vida y Proceso Infeccioso</u>	18
2.4.7 <u>Sintomatología</u>	20

2.4.8	<u>Epidemiología</u>	22
2.5	MANEJO DE LA MONILIASIS.....	23
2.5.1	<u>Prácticas Fitosanitarias</u>	23
2.5.2	<u>Control Cultural (Remoción de Frutos)</u>	24
2.5.3	<u>Control Químico</u>	25
2.5.3.1	<u>Características de Cuprofix</u>	26
2.5.4	<u>Manejo Integrado del Cultivo</u>	27
2.5.4.1	<u>Control Biológico</u>	28
2.5.4.1.1	<u>Características de <i>Bacillus subtilis</i></u>	30
2.5.4.1.2	<u>Características de <i>Pseudomonas cepacia</i></u>	34
2.5.4.1.3	<u>Mecanismo de acción de los biocontroladores</u> ...37	
2.5.4.1.4	<u>Producción y formulación de biopreparados</u> <u>a base de <i>Bacillus Subtilis</i> y <i>Pseudomonas</i></u> <u><i>cepacia</i></u>	40
2.5.4.1.5	<u>Validación de biopreparados</u>	42
2.5.4.2	<u>Fosfitos como Inductores de Resistencia</u>	42
2.5.4.2.1	<u>Fosfito de Calcio (CODAPHOS Ca)</u>	44
2.5.4.2.2	<u>Fosfito de Zinc (CODAPHOS Zn)</u>	46
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	48
3.1.	UBICACIÓN POLÍTICA.....	48
3.2.	UBICACIÓN GEOGRÁFICA.....	49
3.3.	MATERIALES.....	49
3.3.1.	<u>Materiales de Laboratorio</u>	49
3.3.2.	<u>Materiales de Campo</u>	50
3.4.	MÉTODOS.....	51

3.4.1.	<u>Características del campo experimental</u>	51
3.4.2.	<u>Periodo de estudio y características agroclimáticas</u>	51
3.4.3.	<u>Factores en estudio</u>	52
3.4.4.	<u>Tratamientos</u>	53
3.4.5.	<u>Variables</u>	54
3.4.5.1.	<u>Incidencia externa</u>	54
3.4.5.2.	<u>Severidad de moniliasis en mazorcas de cacao</u>	55
3.4.5.3.	<u>Daño interno</u>	55
3.4.5.4.	<u>Peso de frutos</u>	55
3.4.5.5.	<u>Conteo de mazorcas sanas; cherelles, juveniles y mazorcas enfermas</u>	56
3.4.5.6.	<u>Datos climatológicos</u>	56
3.4.6.	<u>Procedimiento</u>	56
3.4.7	<u>Actividades realizadas para la evaluación de medidas de bajo impacto ambiental en el campo</u>	60
3.4.8	<u>Producción de biopreparados</u>	64
3.4.9	<u>Control de calidad de biopreparados</u>	68
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	71
4.1	EFFECTO DE DOS BIOPREPARADOS, CODAPHOS ZINC, CODAPHOS CA, REMOCIONES A LOS 8 Y 15 DÍAS Y CUPROFIX EN EL CONTROL DE LA MONILIASIS EN CACAO NACIONAL X TRINITARIO.....	71
4.2	PESO ACUMULADO DE ALMENDRA ENFERMA Y SU CORRELACIÓN CON FACTORES MEDIO AMBIENTALES.....	78
4.3	MOMENTO ADECUADO DE APLICACIÓN DE CADA MEDIDA DE	

CONTROL.....	82
4.4 DETERMINACIÓN DEL AREA BAJO LA CURVA DEL PROGRESO DE LA ENFERMEDAD (ABCPE) DE LA MONILIASIS.....	84
4.5 ANÁLISIS ECONÓMICO DE LOS TRATAMIENTOS.....	85
V. CONCLUSIONES.....	89
VI. RECOMENDACIONES.....	91
VII. RESUMEN.....	93
VIII. SUMMARY.....	96
IX. BIBLIOGRAFIA.....	99
X. ANEXOS.....	110

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Análisis de superficie sembrada de cacao en el Ecuador.....	8
Cuadro 2. Análisis de superficie sembrada de cacao por provincias en el Ecuador....	9
Cuadro 3. Composición química CODAPHOS Ca.....	45
Cuadro 4. Dosis de aplicación recomendada para varios cultivos.....	46
Cuadro 5. Características agroclimáticas de la finca Garyth,.....	51
Cuadro 6. Tratamientos en estudio.....	54
Cuadro 7. Esquema del ADEVA.....	59
Cuadro 8. Análisis de Variancia (ANOVA) del peso total acumulado de almendra de cacao Nacional x Trinitario por efecto de los biopreparados Basubtil (<u><i>B. subtilis</i></u>), Cepacide (<u><i>P. cepacia</i></u>); Codaphos Zn, CodaphosCa; remociones cada 8 y 15 días y Cuprofix en el período febrero – octubre 2011.....	71
Cuadro 9. Separación de medias del peso total acumulado de almendra de cacao Nacional x Trinitario por efecto de los biopreparados Basubtil (<u><i>B. subtilis</i></u>), Cepacide (<u><i>P. cepacia</i></u>); Codaphos Zn, CodaphosCa; remociones cada 8 y 15 días y Cuprofix en el período febrero – octubre 2011.....	72
Cuadro 10. Análisis de Variancia (ANOVA) del peso acumulado de almendra enferma expresada en porcentaje de cacao Nacional x Trinitario por efecto de los biopreparados Basubtil (<u><i>B. subtilis</i></u>), Cepacide (<u><i>P. cepacia</i></u>); codaphos Zn, CodaphosCa; remociones cada 8 y 15 días y Cuprofix en el período febrero – octubre 2011.....	78

Cuadro 11. Separación de medias del peso acumulado de almendra enferma de cacao Nacional x Trinitario por efecto de los biopreparados Basubtil (<i>B. subtilis</i>), Cepacide (<i>P. cepacia</i>); Codaphos Zn, Codaphos Ca; remociones cada 8 y 15 días; y el tratamiento químico Cuprofix en el período febrero – octubre 2011.....	79
Cuadro 12. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) de la moniliasis por efecto de los diferentes tratamientos.....	84
Cuadro 13. Cálculo del presupuesto parcial. Proyección de rendimientos y reducción de costos de producción de un experimento usando cacao Nacional x Trinitario por efecto de los tratamientos biológicos Basubtil (<i>B. Subtilis</i>) y Cepacide (<i>P. Cepacea</i>); CODAPHOS Ca y CODAPHOS Zn; Remoción cada 8 y 15 días y Cuprofix en el periodo de Febrero – Octubre 2011.....	87

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Ciclo de vida del hongo <i>Moniliophthoralareri</i>	19
Figura 2. Esquema del proceso para la producción y formulación de biopesticidas a base de las bacterias <i>Pseudomonacepacia</i> y <i>Bacillus subtilis</i>	41
Figura 3. Ubicación de la Finca Colinas Garyth.....	49
Figura 4. Dimensiones de la parcela total.....	58
Figura 5. Dimensiones de la parcela neta.....	58
Figura 6. Suspensiones bacterianas.....	66
Figura 7. Inoculación de caldo bacteriano en turba de Chimborazo pre – tratada....	67
Figura 8. Empaque y etiquetado.....	67
Figura 9. Pureza de biopreparados. (A) Basubtil y (B) Cepacide.....	69
Figura 10. Determinación de pH de biopreparados.....	69
Figura 11. Promedios mensuales de precipitación (A), temperatura (B) y humedad relativa (C), durante la fase experimental diciembre 2010 – octubre 2011. Datos tomados de la Estación Meteorológica INIAP Santo Domingo, Provincia de los Tsáchilas.....	74
Figura 12. Producción total acumulada de almendra en el período Febrero – Octubre 2011.....	75
Figura 13. Efecto de siete tratamientos sobre el porcentaje de almendra sana y enferma, en el período Febrero – Octubre 2011.....	75

Figura 14. Porcentaje mensual de almendra enferma en el período Febrero – Octubre 2011.....	81
Figura 15. Porcentaje mensual de almendra sana en el período Febrero – Octubre 2011.....	82
Figura 16. Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE) de la moniliasispor efecto de los biopreparadosBasubtil (<i>B. subtilis</i>), Cepacide (<i>P. cepacia</i>); Codaphos Zn, Codaphos Ca; remociones cada 8 y 15 días y Cuprofix en el período de febrero – octubre 2011.....	85

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Selección del lote experimental y sorteo de parcelas demostrativas en la finca Colinas Garyth.....	110
Anexo 2. Delimitación e identificación de parcelas demostrativas.....	110
Anexo 3. Análisis foliar antes de la instalación del ensayo.....	111
Anexo 4. Podas de mantenimiento.....	111
Anexo 5. Podas fitosanitarias.....	112
Anexo 6. Cosecha, clasificación de mazorcas y toma de datos.....	112
Anexo 7. Pesaje de mazorcas.....	113
Anexo 8. Preparación de productos.....	113
Anexo 9. Aplicación de productos en campo.....	114
Anexo 10. Control de malezas, Fertilización y Análisis de suelos.....	114
Anexo 11. Evaluaciones y tomas de datos realizadas (a partir de la 6ta fumigación).....	116
Anexo 12. Aplicaciones de tratamientos durante el ensayo.....	117
Anexo 13. Acondicionamiento de soportes.....	118
Anexo 14. Preparación de aislados de <i>Pseudomonas cepacia</i> y <i>Bacillus subtilis</i> ...	118
Anexo 15. Control de calidad de biopreparados Basubtil (<i>B. subtilis</i>) y Cepacide (<i>P. cepacia</i>) a los seis meses de elaboración.....	119

I. INTRODUCCIÓN

El cacao "Nacional " ecuatoriano, es reconocido internacionalmente por su excelente calidad y aroma floral. En el mercado mundial del cacao se distingue entre: **granos ordinarios** ("**bulk beans**" o basic beans") utilizados para la fabricación de chocolates comunes, y los **finos o de aroma** ("**flavour beans**") reconocidos por sus marcadas características de aroma y color sumamente apreciadas en la preparación de chocolates finos, revestimientos y coberturas.

El cacao ecuatoriano es altamente apreciado en el mercado internacional por su calidad y aroma. Se cultiva en la Región Central, Oriental y Occidental del país, alcanzando la producción nacional 212 249 T.M. anuales, en 491 221 hectáreas cultivadas (MAGAP / III CNA / SIGAGRO; INEC / ESPAC, enero 2011).

Las provincias de Los Ríos, Manabí y Guayas, ocupan en cuanto a superficie y producción, las zonas con mayor área de siembra, por tener suelos y mano de obra suficiente, estas zonas alcanzan una mayor importancia a nivel nacional. Ecuador participa con el 2% de cacao en grano y el 1,21% de la superficie sembrada del mundo y es uno de los 10 principales países exportadores de cacao con 80 TM; encontrándose 50% por debajo del rendimiento promedio mundial. Por otra parte, hasta el año 1993, el país fue considerado como productor de Cacao Fino o de Aroma en un 100%. En la actualidad, según la ICCO (Internacional Cocoa Organization)(2011), sólo el 50% de la producción nacional, es considerada como Cacao fino o de aroma.

La producción cacaotera del Ecuador está estrechamente relacionada a las condiciones del ecosistema, lo que determina un rendimiento diferente al de otros países productores. En general se consideran factores importantes que influyen en el rendimiento: la imperfecta distribución de las lluvias, escasez de horas luz, la presencia de enfermedades como la monilia y escoba de bruja, edad avanzada de los árboles, pérdida de fertilidad del suelo, falta de zonificación del cultivo, problemas de comercialización interna y la escasa respuesta técnica a estos problemas suscitados (Rosero, 2002).

Como alternativa de producción se presenta la utilización de clones capaces de ofrecer una alta capacidad productiva, con cierto grado de tolerancia a factores externos limitantes como la moniliasis, entre otros, tal es el caso del clon CCN-51 (Colección Castro Naranjal) creado en el año 1960 y liberado en la década de los 70, el mismo que demanda cierto nivel de tecnología para dar los resultados esperados (más de 1.088kg ha^{-1}), al igual que otros clones del híbrido Nacional x Trinitario como: EET 19, EET 95, EET 96, EET103, etc., capaces de generar más de 1.000 kg ha^{-1} de cacao seco, demandando tecnologías aplicativas y viables (Enríquez, 2004; Vallejo y Quingaísa, 2005).

A causa del desconocimiento tecnológico por parte de los productores de cacao en el país, se ha fomentado la utilización incontrolada del clon CCN-51 con el consecuente desplazamiento de la variedad nacional y del mismo híbrido nacional x trinitario, los mismos que son responsables de mantener el sitio que el país ha adquirido de ser productores de cacao fino aroma (Enríquez, 2004; Ramírez 2007).

Por esta razón, numerosas investigaciones se han desarrollado en Colombia para controlar la moniliasis del cacao usando antagonistas con resultados alentadores, en Colombia (García, 2002; Muñoz, 2002); Costa Rica (Jiménez *et al.* 1987); Perú (Krauss y Soberanis, 2001; Arévalo *et al.* 2004). En Ecuador Peralvo y Saavedra (2005), evaluaron el control que tienen los microorganismos: *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas cepacia* sobre la moniliasis del cacao con reducciones del 82 y 81% de la enfermedad, respectivamente. En la misma línea Robles (2008) validó el control que poseen los mismos microorganismos, obteniendo cantidades de almendras sanas de 70,86 % usando *Pseudomonas cepacia* y 69,56 % para *Bacillus subtilis*. Por su parte Durango (2001) realizó la misma investigación y obtuvo el 80% de reducción de la enfermedad, al igual que Yáñez (2004), quién obtuvo de 70 – 80% en el control de la enfermedad utilizando las bacterias del género *B. Subtilis*, *P. cepacia*.

Otros estudios han permitido caracterizar, evaluar *in vitro* y determinar la tolerancia a agroquímicos de las bacterias benéficas: *Pseudomonas cepacea*, *Pseudomonas putida* y *Bacillus subtilis*; así como su formulación para biopesticidas con interesantes resultados, para lo cual se realizaron ensayos en la finca Experimental Orecao, Provincia de los Ríos, Ecuador, se logró disminuir la enfermedad de hasta el 70%. Otras investigaciones realizadas en el cantón Valencia, Provincia de Los Rios demostraron el uso de los biopesticidas formulados en turba, en donde *P. cepacea* y *B. subtilis* redujeron la incidencia de *M. rozeri* en un 76 y 86 % respectivamente en comparación con el control químico, en cacao fino y de aroma (Falconí *et al.* 2003).

Para el desarrollo del estudio se plantearon los siguientes objetivos:

1.1. OBJETIVO GENERAL:

- Evaluar el efecto de la aplicación de dos biopreparados a base de *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas cepacia*; dos inductores de resistencia adquirida a base de fosfito de calcio y zinc; la reducción de esporulación a través de la remoción de frutos enfermos cada ocho y quince días; y un control químico en el manejo de la moniliasis *Moniliophthora roreri* Cif y Par. Evans *et al* en cacao nacional x trinitario, en la época seca y lluviosa en Santo Domingo de los Tsáchilas.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Evaluar el efecto individual que posee cada medida de control en relación a un control químico en el manejo de la moniliasis en mazorcas de cacao, durante un ciclo de producción de un año.
- Relacionar el efecto de factores medio ambientales en la actividad de los biopreparados, inductores de resistencia y reducción de esporulación para el control de la moniliasis.
- Establecer los momentos de aplicación adecuados de cada medida de control.

- Determinar el tratamiento más económico para el control de moniliasis en el cultivo de cacao mediante el análisis de presupuesto parcial de Perrín.
- Difundir la metodología y los resultados relevantes obtenidos en la investigación a los interesados, para su conocimiento y aplicación.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. EL CULTIVO DE CACAO

2.1.1. Generalidades

El cacao es uno de los cultivos alimenticios que desde el punto de vista tecnológico e industrial ha tenido un avance lento. Quizás una de las razones se debe a su carácter altamente minifundista y las características de incompatibilidad genética que lo caracterizan (MAG, 2006).

En el aspecto de su reproducción en los últimos años el productor está regresando a la etapa de inicio del cultivo, con la recombinación de genes para la obtención de plantas biclonales F1 para mejorar la producción, resistencia a enfermedades y la calidad (MAG, 2006).

2.1.2. Producción

Las primeras noticias que se tienen en el país sobre la producción de cacao datan de 1780, es decir muchos años antes de la instauración de la República, lo que significaría que el Ecuador tiene más de 200 años produciendo cacao (Vera, 1993 a).

Según datos del III Censo nacional agropecuario 2002, en el Ecuador se cultiva una superficie de 243.146 ha de cacao como cultivo solo, y de 191.272 ha de cacao como cultivo asociado, dando un total de 434.418 ha (INEC, 2002), de las cuales el

cacao trinitario CCN 51 posee una superficie sembrada de alrededor de 147.702 ha, la cual ocupa un gran porcentaje sembrado en nuestro territorio, debido a que su producción es superior a la del cacao nacional fino y de aroma, cuyas producciones oscilan alrededor de los 50 – 60 qq/ha y 25 – 30 qq/ha, respectivamente (Vallejo; Quingaísa, 2005).

La producción del cacao en el Ecuador se encuentra muy ligada a las condiciones del ecosistema y esto es determinante para que las causas que reducen el rendimiento sean diferentes a la de otros países productores; entre estas se citan comúnmente la irregular distribución de lluvias, presencia de enfermedades difíciles de manejar, insectos defoliadores, conservadorismo en la forma de explotación, edad avanzada de los árboles, podas inadecuadas, pérdida de fertilidad de los suelos, falta de zonificación del cultivo, problemas de comercialización interna, entre otras razones (Enríquez, 2004).

Además se ha constituido un importante renglón para la economía nacional, en especial por su significativa contribución a la generación de divisas por concepto de exportación, actividad que se inició en la época de la Colonia. En la actualidad ocupa el tercer lugar en el monto de exportaciones del sector agrícola, después del banano y de las flores.

No menos importante es su participación en la generación de empleo, estimándose que da ocupación al 5 % de la población económicamente activa del país, tanto en la fase de producción en 60.000 Unidades de Producción Agropecuaria (UPA), como en la comercialización e industrialización. Aproximadamente el 60 %

de la producción se exporta en grano, el 35 % constituye materia prima para la fabricación de semielaborados (torta, licor, pasta, manteca y polvo) y chocolates; el 5 % se destina a industrias artesanales del país.

En el Ecuador el cacao es cultivado en su mayoría por pequeños y medianos agricultores, quienes son de bajos recursos y no poseen un servicio de transferencia de tecnología adecuado, por tanto los rendimientos son lejanos a 300 kg/ha (Cuadro 1). Por su parte, en fincas seleccionadas el promedio puede sobrepasar 1.000 kg/ha (Enríquez, 2004).

En el 2000 se exportaron 74 millones de dólares y para el 2005 la cifra ascendió a 176 millones, lo que significa un crecimiento porcentual de 138 % de las exportaciones registradas por el puerto de Guayaquil, si sumamos las salidas irregulares a Colombia y Perú, y el consumo nacional, llegamos a un monto de 220 millones de dólares de producción al año (Anecacao, 2006).

Cuadro 1. Análisis de superficie sembrada de cacao en el Ecuador

AÑOS	SUPERFICIE SEMBRADA (Ha.)	SUPERFICIE COSECHADA (Ha.)	PRODUCCIÓN EN ALMENDAR SECA (Tm.)	RENDIMIENTO (Tm.t/Ha.)
2000	434.419	402.836	107.911	0,27
2001	415.327	389.134	101.693	0,26
2002	383.711	363.575	91.632	0,25
2003	374.045	348.434	122.451	0,35
2004	366.927	336.358	131.164	0,39
2005	406.866	357.706	144.143	0,4
2006	407.868	350.028	139.498	0,4
2007	422.985	356.657	131.419	0,37
2008	455.414	376.604	143.945	0,38
2009	468.840	398.104	189.755	0,48
2010*	491.221	415.615	212.249	0,51

Fuentes: MAGAP / III CNA / SIGAGRO; INEC / ESPAC

Elaboración: MAGAP/SIGAGRO/ANÁLISIS SECTORIAL

Fecha: Enero del 2011.

2.1.2.1. Superficie, producción y rendimiento a nivel provincial

2010

La mayor área sembrada de cacao se encuentra distribuida en toda la costa ecuatoriana, pero también se siembra en las estribaciones andinas y en la Amazonía pero en cantidades poco significantes (Cuadro 2).

Cuadro 2. Análisis de superficie sembrada de cacao por provincias en el Ecuador

	2010			
	SUPERFICIE SEMBRADA (Ha)	SUPERFICIE COSECHADA (Ha)	PRODUCCIÓN EN ALMENDRA SECA (Tm)	RENDIMIENTO (Tm./Ha.)
Total Nacional	491.221	415.615	212.249	0,51
Azuay	2.587	2.204	1.097	0,50
Bolívar	14.350	13.241	3.814	0,29
Cañar	7.764	7.628	2.748	0,36
Carchi				
Chimborazo	180	180	123	0,69
Cotopaxi	14.872	13.310	4.790	0,36
El Oro	18.092	16.325	7.687	0,47
Esmeraldas	56.739	50.152	23.330	0,47
Galápagos				
Guayas	102.140	83.277	67.979	0,82
Imbabura	138	89		
Loja	149	148	39	0,26
Los Ríos	104.788	87.927	50.008	0,57
Manabí	108.649	96.923	28.860	0,30
Morona Santiago	1.424	805	387	0,48
Napo	10.919	7.303	4.341	0,59
Orellana	9.165	6.892	3.164	0,46
Pastaza	943	507	129	0,26
Pichincha	8.771	7.042	2.873	0,41
Santa Elena				
Santo Domingo de los Tsáchilas	17.538	13.603	7.639	0,56
Sucumbíos	10.762	7.373	2.947	0,40
Tungurahua				
Zamora Chinchipe	1138	635	243	0,38

Fuentes: MAGAP / III CNA / SIGAGRO; INEC / ESPAC

Elaboración: MAGAP/SIGAGRO/ANÁLISIS SECTORIAL

Fecha: Enero del 2011

2.1.2.2. Promedio de rendimientos x hectárea⁻¹

Los rendimientos para el Cacao fino de aroma, son a partir del tercer año cuatro quintales, en el cuarto año se obtiene ocho quintales, durante el quinto año produce diez y ocho quintales, en el transcurso del sexto año produce treinta quintales y en el séptimo año produce cuarenta quintales por hectárea al año.(MAGAP, 2011).

Mientras que los rendimientos para el Cacao CCN 51 son de igual forma al tercer año produce ocho quintales, el cuarto año produce quince quintales, el quinto año produce veinte y un quintales, el sexto año produce cuarenta quintales y el séptimo produce sesenta quintales por hectárea al año (MAGAP, 2011).

2.2. ECOLOGÍA DEL CULTIVO DE CACAO.

Es difícil cultivar cacao satisfactoriamente con una temperatura baja, siendo su límite medio anual de temperatura los 21 °C. Cuando ésta es menor a 21 °C la floración es menor, comparada con temperaturas de 25 °C, donde la floración es normal y abundante (Ramos *et al.* s.f.).

Se requiere una precipitación de 1.200 a 2.500 mm anuales bien distribuidos. Este es un factor de importancia para decidir si un área posee las condiciones óptimas para el establecimiento del cultivo (Ramos *et al.* s.f.).

En la regulación de la evaporación del agua en el suelo y la transpiración de la planta, la humedad del aire cumple un papel muy importante. La humedad relativa promedio debe ser de 75 a 80 % (Rodríguez, D., Báez, M., 2002).

La altura desde el nivel del mar hasta los 400 m.s.n.m es la óptima para el cultivo de cacao (Ramos *et al.* s.f.).

El promedio de luminosidad necesario para el cultivo de cacao es de 800 a 1000 horas sol al año (Ramos *et al.* s.f.).

2.3. ENFERMEDADES DEL CULTIVO DE CACAO

Enríquez (2004), señala que las enfermedades del cacao causan más pérdidas al agricultor que los insectos, pueden destruir las mazorcas de una huerta de cacao en un momento dado y otras enfermedades pueden destruir o matar las plantas susceptibles. Las enfermedades más importantes del cultivo de cacao son las siguientes:

- Moniliasis
- Escoba de Bruja
- Mal de Machete
- Mazorca Negra
- Bubas

En el III Censo nacional agropecuario 2002, se determinó la presencia de enfermedades como una de las principales causas para la pérdida de producción en el cacao, con 5 498 ha. pérdidas (INEC, SICA, MAG, 2002).

La **Escoba de Bruja** del cacao es causada por el hongo basidiomiceto *Crinipellis perniciosus* Stahel (Enríquez, 2004). Al parecer fue observada en los años de 1700, pero la investigación científica de la enfermedad comenzó en Suriname en los años de 1890 por Gregor Stahel (Purdy, 1999). Su efecto devastador se sintió en Ecuador en 1918 (Enríquez, 2004). La enfermedad está presente en Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Granada, Guyana, Panamá, Perú, St. Vicent, Suriname, Trinidad y Tobago y Venezuela (Purdy, 1999).

Arévalo *et al.* (2004) explican que otra grave enfermedad del cacao es el **Mal de Machete** causada por el hongo *Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halstead. Suárez (1993) menciona que se reportó por primera vez en el Ecuador en 1918. Posteriormente ha sido reportada en otros países de Centro y Sur América, únicamente.

Según Enríquez (2004), la **Mazorca Negra** es una de las enfermedades más importantes del cacao en todas las áreas cacaoteras del mundo; existen probablemente cinco o más diferentes especies de *Phytophthora* que causa esta enfermedad; *P. palmivora* es casi pandémica en cualquier lugar que se cultive cacao y tiene una amplia gama de hospederos *P. capsici* y *P. citrophthora* se restringen a América y *P. heavae* probablemente está presente en América del Sur y Malasia. Por otra parte, *P. megakarya* está presente solamente en África del Oeste. Además

se han reportado infecciones en cacao por *P. nicotianae* en México.

Las Bubas se caracterizan por un abultamiento y crecimiento anormal de los cojines florales; posiblemente ocasionan pérdidas significativas de cacao en Costa Rica. Aunque se han identificado cinco tipos diferentes de bubas, solamente dos son importantes: la buba de puntos verdes, causada por el hongo *Calonectria* (*Fusarium*) *rigidiuscula*, y la buba floral, cuyo agente causal se desconoce (Enríquez, 2004).

2.4. MONILIASIS.

2.4.1. Historia y distribución geográfica

La enfermedad, conocida con los nombres de Monilia, Pudrición acuosa, Helada, Mancha Ceniza o Enfermedad de Quevedo, es causada por el hongo *Monilia* (*Moniliophthora roreri* Evans *et al.* (Cif. y Par.)). El origen de la enfermedad ha sido estudiado por varios autores, algunos creen que su centro de origen está en Ecuador y que de ahí pasó a Colombia, Perú, Bolivia y a algunos lugares de Venezuela. En Panamá se la ha encontrado recientemente al sur del Canal (Evans *et al.* 2003; Enríquez, 2004).

Esta enfermedad fue reportada en Ecuador, en la Provincia de los Ríos, en el lado occidental de los Andes, siendo denominado el patógeno como *Monilia roreri*. De allí viene el nombre “moniliasis”, término genérico para designar enfermedades producidas por hongos del género *Monilia*. Sin embargo, Evans *et al.* (1973) determinaron que el agente causal es un hongo Basidiomycete, por lo tanto no

corresponde a un miembro del género *Monilia*, que se encuentra ubicado dentro de los Ascomycetes. La enfermedad se diseminó posteriormente a Colombia, Venezuela, Panamá, Costa Rica y Honduras. La moniliasis, es una de las enfermedades de mayor importancia en el cultivo de cacao y se caracteriza por dañar frutos de cualquier estado de desarrollo. Afecta a todas las especies de los géneros *Theobroma* y *Herrania* (Arévalo *et al.* 2004).

2.4.2. Morfología y Fisiología del Hongo.

Según Castaño (1952) *M. roreri* presenta *in vitro* un crecimiento zonal en áreas concéntricas, con tonalidades diferentes dentro de la misma colonia. El centro de ésta presenta una zona de color café oscuro constituida por masas de conidias pero menos densa. En la periferia del micelio ocurre en forma abundante constituido por filamentos cortos decumbentes. Cuando se observa al microscopio es brillante y septado con hilos cortos y alargados de tres a cuatro micrómetros de ancho.

Castaño (1952), afirma que el micelio es hialino, tortuoso y profundamente ramificado y forma un pseudo-estroma sobre la superficie de las manchas. Los conidióforos son bifurcados o trifurcados en la base, hialinos pluriseptalos, rectos o irregularmente ondulados, de nueve a cincuenta micras de longitud. Las conidias pueden ser redondas, elipsoidales y forman cadenas simples, ramificadas de siete y medio a diez micras de diámetro por ocho a diez y medio micrómetros de largo.

Con el tiempo aparece en la superficie de la mazorca, una mancha parda rodeada por una zona de transición de color amarillento. Esta mancha puede crecer

hasta llegar a cubrir una parte considerable o la totalidad de la superficie de la mazorca (Rodríguez, 2002).

Bajo condiciones húmedas crece sobre la superficie de la mancha una especie de felpa dura y blanca de micelios de Moniliasis que puede cubrir la totalidad de la mancha, y sobre el micelio se produce gran cantidad de esporas que dan a la masa un color crema o café claro. Desde la penetración superficial de las hifas hasta el apareamiento de los primeros síntomas transcurren aproximadamente de seis a diez semanas, una vez que todos los tejidos han sido consumidos se produce la pudrición y momificación del fruto (Enríquez, 2004).

El ciclo del patógeno dura entre cincuenta y sesenta días, desde la infección hasta completar la esporulación (Arévalo *et al.* 2004). Se puede considerar dos ciclos diferentes dependiendo si el inóculo llega a las mazorcas sanas a partir de frutos con infecciones recientes o de frutos infectados de ciclos anteriores que quedan momificados en el árbol (Yáñez, 2004). Las conidias se producen en cadenas en las superficies de las mazorcas enfermas que siguen siendo verdes, o en las mazorcas que están momificadas y de color negruzco (Purdy, 1999). Arévalo *et al.* (2004) señala que las esporas permanecen viables ocho a nueve meses después de su esporulación, por lo que se considera como fuente de inóculo primario. Las mazorcas pueden ser infectadas en cualquier edad, siendo los estados iniciales de su desarrollo los más propensos al ataque del patógeno (Bejarano, 1961).

Para la germinación e infección exitosa, las conidias requieren de agua y ambiente saturado mínimo de cinco a ocho horas.

2.4.3. Impacto Económico.

La enfermedad ataca solamente los frutos del cacao y se considera que constituye uno de los factores limitantes de mayor importancia en la producción del cultivo. Puede provocar pérdidas que oscilan entre un 16 y 80 % de la producción. La severidad del ataque de la Monilia varía según la zona y época del año, de acuerdo con las condiciones del clima; aparentemente las temperaturas altas son más favorables para la diseminación de la Moniliasis (Evans *et al.*2003).

El ataque de la enfermedad es con frecuencia tan severo que se considera que la enfermedad constituye uno de los factores limitantes de mayor importancia en la producción del cacao (Enríquez, 2004).

Las pérdidas en las cosechas van de la mano con la aplicación errónea de las labores culturales, principalmente la poda fitosanitaria y a que si se la realiza correctamente las cosechas se reducen hasta un 30 %, solo con este factor (Enríquez, 2004).

En el Ecuador las pérdidas expresadas desde 1916 que apareció esta enfermedad han sido muy elevadas, para comparar sus producciones en los años que apareció la moniliasis en nuestro país, Campollo (1984) cita unos datos de 1916 donde se produjo 65.000 libras de cacao seco, en 1917 se obtuvieron 71.000 libras, y en 1918 empieza a decrecer a 22 500 libras de cacao seco, en 1919 solo se produjeron 3.600 libras, y para 1919 ya se abandonó el cultivo para sustituir por el cultivo de banano.

Su efecto dañino en la producción, es por lo tanto, comparable al de la Mazorca negra. En nuestro país la moniliasis sola o combinada con escoba de bruja pueden causar pérdidas desde el 60 % al 100 % en la producción (Suárez, 1993; Solís, 1999).

2.4.4. Taxonomía

El agente causal de esta enfermedad es *Moniliophthora roreri* Cif. y Par. Evans *et.al.* (2003), a pesar que aún se mantiene en discusión. En 1933 este hongo se colocó en el Phylum Mitospórico; Clase Basidiomycetes; Orden Moniliales; Familia Moniliaceae; Género *Moniliophthora*; Especie *roreri* Cif. & Par(Evans *et al.* 1981)

De acuerdo a Evans *et al.* (1981), *M. roreri* representa el estado asexual de un basidiomycete cuyo estado perfecto no es conocido o nunca ha sido formado; pues el micelio de este hongo presenta septas tipo doliporo, característica propia de los Basidiomycetes. De acuerdo a estudios genéticos, *M. roreri* corresponde a una especie del género *Crinipellis*, que incluye al agente causal de la escoba de bruja, *C. perniciosa*, por lo cual, el nombre correcto del agente causal de la moniliasis del cacao sería *C. roreri* (Enríquez, 2004).

2.4.5. Hospederos

En condiciones de campo, *M. royeri* afecta solamente los frutos de plantas de los géneros *Theobroma* y *Herrania*, ambos de la familia Sterculiaceae. Mediante inoculaciones artificiales se ha logrado infectar tallos de cacao, de donde ha sido posible aislarlo posteriormente para las diferentes investigaciones tanto *in vitro* como *in situ* (Enríquez, 2004).

2.4.6. Ciclo de Vida y Proceso Infeccioso

El ciclo del patógeno dura entre cincuenta y sesenta días, desde la infección hasta completar la esporulación (Revisado por Arévalo *et al.* 2004). Se pueden considerar dos ciclos diferentes dependiendo si el inóculo llega a las mazorcas sanas a partir de frutos con infecciones recientes o de frutos infectados de ciclos anteriores que quedan momificados en el árbol (Revisado por Yáñez, 2004). Las conidias se producen en cadenas en las superficies de las mazorcas enfermas que siguen siendo verdes, o en las mazorcas que están momificadas y de color negruzco (Purdy, 1999).

Las esporas de este patógeno son fácilmente transportadas por el viento, el hombre y otros agentes, hacia las mazorcas sanas donde se reinicia la enfermedad (Revisado por Arévalo *et al.* 2004). Las mazorcas pueden ser infectadas en cualquier edad, siendo los estados iniciales de su desarrollo los más propensos al ataque del patógeno (Bejarano, 1961). Para la germinación e infección exitosa, las conidias requieren de agua y ambiente saturado mínimo de cinco a ocho horas. La penetración se realiza directamente a través del exocarpo y ocasionalmente por los estomas,

avanzando intercelularmente, lo que facilita una esporulación interna de la mazorca (Revisado por Arévalo *et al.*2004).

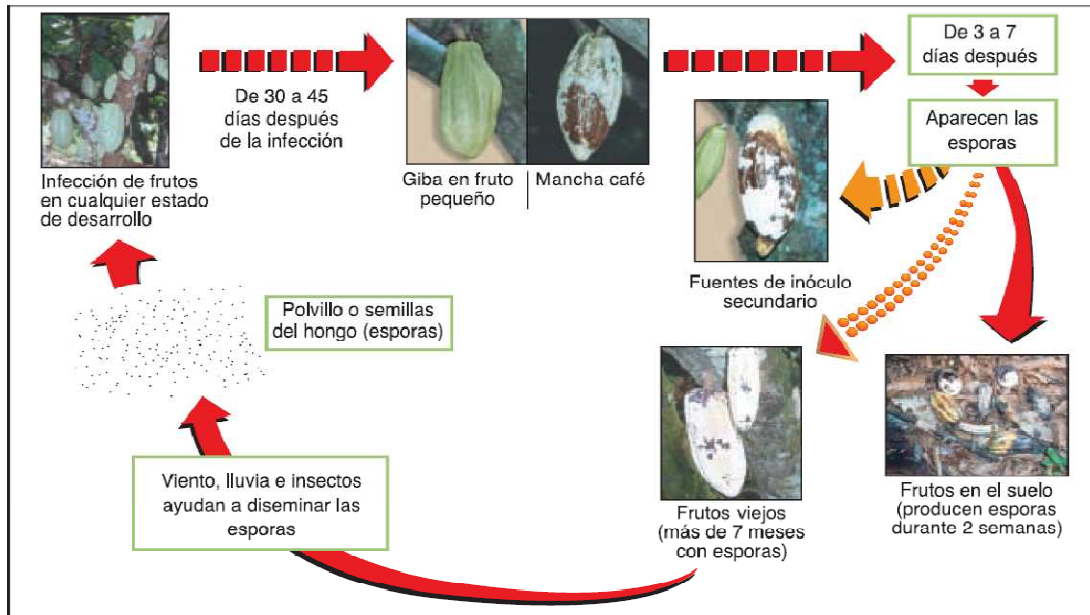


Figura 1. Ciclo de vida del hongo *Moniliophthora roreri*(tomado de Robles, 2008)

Una vez infectado el fruto, treinta días después empiezan aparecer los primeros síntomas iniciales de la enfermedad, a continuación se presentan unos puntos aceitosos que se atrofian y empiezan a formarse manchas de color marrón a los quince a veinte días, después de esta etapa empieza a formarse una capa blanquecina que envuelve gradualmente todo el fruto y tres a cuatro días se llena de esporas secas del hongo, tomando una coloración cremosa (Arévalo *et al.*2004).

Cuando logra entrar en las etapas iniciales del crecimiento, el hongo parece capaz de invadir el interior de la mazorca, mientras ésta continúa su crecimiento, sin que en su exterior aparezca ningún síntoma de la enfermedad. A menudo hay

mazorcas con estas infecciones ocultas que casi han alcanzado su desarrollo completo, dando la impresión de estar sanas, pero repentinamente aparecen en su superficie las manchas características de la enfermedad (Enríquez, 2004).

Desde la penetración superficial de las hifas hasta el apareamiento de los primeros síntomas transcurren aproximadamente de seis a diez semanas, una vez que todos los tejidos han sido consumidos se produce la pudrición y momificación del fruto (Enríquez, 2004).

2.4.7. Sintomatología

En condiciones naturales, el fruto es el único órgano del cacao infectado por *M. roleri*. Las investigaciones han permitido determinar que los síntomas varían con la edad del fruto al momento de la infección, pero la velocidad de desarrollo depende de las condiciones ambientales, especialmente de la temperatura y de la susceptibilidad del clon o variedad de cacao. El síntoma más característico de la enfermedad es una mancha de color marrón oscuro y borde irregular, denominado “mancha chocolate”.

La infección en frutos recién formados, menores de veinte días, produce un chupado o marchitez, similar al denominado “Cherelle wilt” (marchitez de Cherelle) o al ocasionado por otras enfermedades. Los frutos detienen su desarrollo, adquiriendo una coloración marrón húmeda. Generalmente no se observa esporulación del hongo en la superficie del fruto.

En frutos de mayor edad, pero menores de dos meses, ocurren deformaciones a modo de una jiba o joroba. Posteriormente se desarrolla la mancha chocolate, rodeada por una zona de madurez prematura de color amarillo. La mancha puede comprometer a todo el fruto. Internamente, las semillas se convierten en una masa acuosa, por lo cual a la enfermedad se le llama también “pudrición acuosa de la mazorca”. En este caso, las mazorcas enfermas pesan más que las sanas (Arévalo *et al.*2004).

Las mazorcas infectadas después de los tres meses de edad pueden, en algunos casos no mostrar síntomas externos (Enríquez, 2004). En otros casos se observan puntos necróticos marrón oscuros y manchas oscuras limitadas, ligeramente hundidas, con frecuencia rodeadas por áreas de maduración prematura. Internamente, se observa una pudrición de color marrón rojizo, que afecta a algunas o a todas las semillas, las cuales se compactan y no se separan entre ellas o de la cáscara, la cual se mantiene firme. En frutos infectados cerca de la cosecha (más de cuatro meses de edad), la infección puede limitarse a la corteza del fruto, sin llegar a las almendras o afectar solamente a algunas. Las que se mantienen sanas pueden cosecharse y aprovecharse.

Otro síntoma común de esta enfermedad es la maduración prematura. Los frutos cambian de coloración, dando la apariencia de estar maduros, cuando no tienen ni el tamaño, ni la edad de cosecha. Por lo general, en las áreas amarillentas se desarrolla posteriormente la mancha chocolate (Suárez y Solís, 2003).

2.4.8. Epidemiología

Las infecciones causadas por *M. royeri* se favorecen por varios factores como la humedad y temperatura altas. Las esporas requieren de agua libre o de una humedad relativa cercana al 100% para su germinación. El crecimiento vegetativo requiere una temperatura óptima de 24 a 26 °C. En general, la temperatura favorable a la enfermedad se encuentra en el rango de 22 a 30 °C. Por encima o debajo de estos valores, es menos agresiva. Estos valores determinan tasas altas de infección con carácter de epidemia durante las fases de floración y fructificación del árbol (Evans, 1981).

Dentro de las plantaciones, las condiciones que favorecen una alta humedad y por lo tanto a la moniliasis son los drenajes deficientes, plantas muy altas y con exceso de sombra y la no ejecución de labores culturales, especialmente las podas y control de malezas.

Algunos estudios han establecido una correlación positiva entre la cantidad de lluvia y la cosecha de mazorcas enfermas tres a cuatro meses después lo que concuerda con relación al tiempo que tarda la expresión de síntomas. Un fruto infectado es capaz de producir entre seis a siete billones de conidias durante 20 períodos de esporulación en ochenta días (Desrosiers *et al.*, 1955). La mayor cantidad de conidias en el aire ocurre durante el día cuando sube la temperatura y baja el porcentaje de humedad en el ambiente (Revisado por Yáñez, 2004).

2.5. MANEJO DE LA MONILIASIS

2.5.1. Prácticas Fitosanitarias

Para el combate de la enfermedad se ha recomendado el manejo de la sombra que permita un mayor paso de luz y una mayor aireación para reducir la humedad del ambiente, realizar podas periódicas, cosechar los frutos maduros periódicamente, evitar el encharcamiento del cultivo y eliminar los frutos afectados enterrándolos, tratando de no diseminar las esporas del hongo por la plantación (Rodríguez, 2002).

Estas prácticas deben realizarse con la única finalidad de reducir las fuentes y potencial de inóculo y preparar al árbol para que cada año produzca una cosecha abundante y sana (Arévalo *et al.* 2004).

Según Enríquez (2004), para combatir la enfermedad recomienda regular la sombra definitiva del cacaotal, para que permita mayor paso de luz y aire (30-40%); Levantar la sombra con relación a la planta de cacao para reducir la humedad en su ambiente; Podar el cacao en forma moderada varias veces al año (tres a cuatro veces); Cosechar las mazorcas maduras cada dos semanas para no tener infecciones en las etapas finales de la maduración; No permitir que el agua se empoce o forme charcos; Recolectar mazorcas enfermas antes de que esporulen en la misma.

De ahí que Enríquez (2004), explica que no es conveniente mover las mazorcas enfermas donde se encuentran esporulando, pues esto aumenta la dispersión de las esporas y aumenta el costo de producción.

Últimos estudios demuestran que la remoción semanal de mazorcas enfermas realizadas durante todo el año redujo la incidencia de moniliasis de un 26 a 41 % (Soberanis *et al.*, 1999). Pero su aplicación es impracticable, porque los incrementos que se logran en la producción no alcanzan a cubrir los gastos que demanda la operación (Falconí *et al.* 2004; Sandoval *et al.* 1987 y Barros, 1980). Por lo tanto con la continua caída del precio del cacao, es necesario aplicar diversos métodos de control suplementario y económicos (Soberanis *et al.* 1999).

2.5.2. Control Cultural (Remoción de Frutos).

La práctica de control cultural consistente en la remoción de frutos enfermos, es la más importante para el control de la moniliasis: se trata de cortar las mazorcas con síntomas de la enfermedad, especialmente antes de la etapa de esporulación, con el objeto de impedir que el hongo alcance su etapa reproductiva.

El propósito fundamental de la remoción de mazorcas es disminuir la cantidad de esporas del hongo (inóculo) presente dentro del cultivo, con el fin de evitar la contaminación de las mazorcas que están en formación. La práctica está encaminada fundamentalmente a proteger la cosecha principal del cultivo y, en especial, los pepinos o mazorcas pequeñas, ya que los frutos de menos de dos meses son los más susceptibles al ataque de la enfermedad debido a que el hongo puede penetrar más fácilmente la epidermis de los frutos de esta edad (Sánchez, 1982; Suárez, 1993).

La remoción de frutos enfermos es el método tradicional de control cultural de la moniliasis, pero se aplica con frecuencias y niveles muy variables. Debido al ciclo de vida de *M. rozeri*, Soberanis *et al.* (1999) recomendaron la remoción semanal de mazorcas infectadas por este patógeno en el Perú. Basados en datos históricos, Leach *et al.* (2002) propusieron que un aumento en la frecuencia de remoción de mazorcas infectadas por *M. rozeri*, de intervalos mensuales a semanales, resultaría en un aumento de rendimientos que no solamente pagaría la mano de obra adicional, sino también mejoraría los ingresos del productor bajo las condiciones socioeconómicas de Talamanca. Esta recomendación contradice la intuición del agricultor y, por lo tanto, no es adoptado ampliamente.

2.5.3. Control Químico

El uso de fungicidas ha sido sugerido para controlar la moniliasis del cacao en diversos lugares, sin embargo, en la mayoría de casos se considera que son poco efectivos y costosos, lo cual determina que este método sea poco apropiado. Además, los fungicidas, como otros plaguicidas contaminan el ambiente, con efectos nocivos para los diferentes organismos, motivo por el cual, no se recomienda su aplicación (Arévalo, 1992).

Algunos fungicidas de base cúprica combaten esta enfermedad; la dificultad estriba, en mantener cubierta o protegida la mazorca durante su periodo de crecimiento, las lluvias torrenciales y en los árboles adultos donde la producción también se concentra en las ramas, aumenta la dificultad de aplicación (Suárez, 1993).

El uso de fungicidas es demasiado costoso para ser considerado en un plan de manejo ya que se necesita un número excesivo de aplicaciones para lograr una cobertura adecuada de las mazorcas (Jiménez *et al.* 1987 y Purdy, 1999). Por tanto el control químico encarece notablemente los costos de producción (Falconí *et al.* 2007).

2.5.3.1. Características de Cuprofix

CUPROFIX 30 WG, es un fungicida de acción polivalente, está compuesto a base de Sulfato de Cobre (47%) y Mancozeb (34,5%). Es un fungicida preventivo que combina la acción del cobre (Caldo Bordelés) con Mancozeb. El efecto fungitóxico del cobre se manifiesta en los hongos inhibiendo la germinación de las esporas. A nivel celular limita la producción de energía necesaria para el proceso de respiración. Además de su efecto fungicida el producto presenta actividad bactericida (MAG 2006).

A. Composición e información sobre los componentes

a) Tipo de formulación: WP/PM - polvo mojable; **b)** Sustancia(s) activa(s): Sulfato de Cobre (47%) y Mancozeb (34.5%); **c)** Denominación química (IUPAC): Hidróxido de calcio/ Sulfato de cobre.; Manganese ethylenebis, dithiocarbamate) (polymeric); **d)** Fórmula química: $\text{CuSO}_4 + \text{Ca}(\text{OH})_2; [\text{C}_4 \text{H}_6 \text{N}_2 \text{S}_4 \text{Mn}]_x$

B. Propiedades físicas y químicas

a) Estado físico a 20°C: Sólido, Polvo; **b)**Color: Azul; **c)**Peso específico: 510 - 710 kg/m³; **d)**Presión de vapor: Sin importancia; **e)**Temperatura de inflamación: No aplicable; **f)**Solubilidad en agua: Dispersable; **g)**Solubilidad en disolventes: Insoluble en la mayoría de los disolventes orgánicos; **h)**pH en agua destilada: 6.6 - 8 (dispersión al 1%)

C. Estabilidad y reactividad

a) Productos incompatibles: Ácidos fuertes; **b)**Productos de descomposición peligrosos: Disulfuro de carbono, Sulfuro de hidrógeno, Óxidos de azufre, Óxido de nitrógeno, Óxido de carbono; **c)**Reacción peligrosa: Ninguna en condiciones normales (Viñas *et al.*, 2003).

2.5.4. Manejo Integrado del Cultivo.

Las estrategias MIC involucran diversas tácticas mecánicas, químicas y biológicas. Entre ellas, reducir el uso de agroquímicos, utilizar agroquímicos más específicos, menos tóxicos y con el mínimo impacto ambiental. Una innovadora tecnología dentro de las estrategias de control integrado del cultivo es el uso de compuestos químicos biocompatibles que aumentan la resistencia a enfermedades en plantas a través del mecanismo de Resistencia Inducida (Sheng Ye *et al.* 1995; Shirasu *et al.* 1997; Sticher *et al.* 1997).

Posibles compuestos químicos biocompatibles, inductores de la resistencia inducida, lo constituyen compuestos como los Fosfitos, utilizados como nutricionales foliares defensivos en diferentes cultivos hortícolas (Reuveni & Reuveni, 1998). Se postula que aumentarían la performance de la planta otorgándoles mayor vigor y resistencia a las enfermedades. En papa, Johnson *et al.* (2004) han reportado el efecto de la aplicación foliar de ácido fosforoso sobre la protección a *Phytophthora infestans*, *P. erythrosetpica* y *Pitium ultimum* en tubérculos postcosecha. Los autores describen una mayor protección en cultivares resistentes, como Umatilla Russet a *P. infestans* y *P. erythrosetpica*, y una menor protección en cultivares medianamente resistentes como Ranger Russet, a una dosis de 9,5 kg/ha.

2.5.4.1. Control Biológico.

El control biológico es la manipulación directa e indirecta por parte del hombre a los agentes vivos que de forma natural tienen capacidad de control. Esta manipulación provoca un aumento de su capacidad de ataque sobre las enfermedades (Yáñez, 2004).

Las primeras investigaciones en el control biológico de la moniliasis se basaron en la evaluación de eficiencia *in vitro* de cepas de hongos de los géneros *Aspergillus*, *Penicilium* y otros hongos y bacterias no identificados (Bravo y Victoria, 1980). Aun cuando los resultados obtenidos con las cepas de *Aspergillus* y *Penicillium* no fueron positivos, las bacterias probablemente del género *Bacillus* mostraron eficiencia. A partir de estos resultados en Costa Rica, Ecuador y Perú se ha intensificado la investigación que va desde la evaluación de bacterias del género

Bacillus, *Pseudomonas* y *Leuconostoc* formuladas en suspensión líquidas y sólidas para el control de *Moniliophthora roreri*; hasta mezclas de hongos microparásitos *Clonostachys rosea* y *Trichoderma* para el control incluso de *Phytophthora palmivora* y *Crinipellis pernicioso* (Yáñez, 2004).

El Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) viene trabajando en la búsqueda de materiales antagonistas con el organismo. En el año 2001 se pudo detectar algunos organismos potenciales antagonistas correspondientes a *Trichoderma koningii*, y se han desarrollado metodologías de multiplicación masiva de este antagonista y su comportamiento en el campo ha reducido casi totalmente la enfermedad, especialmente si se retiran las mazorcas enfermas de la plantación (Enríquez, 2004).

En el Centro de Investigaciones de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria ESPE se han realizado varias investigaciones a nivel de campo para evaluar la eficiencia de bacterias epífitas para el control de la moniliasis en el cultivo de cacao. Además se han realizado muestreos en 21 localidades del Ecuador, obteniendo doscientas cincuenta y seis bacterias, de las cuales se identificaron y clasificaron tres bacterias que inhibieron la germinación de esporas y formación de micelio del hongo *M. roreri*, y estas fueron: *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas cepacia* y *Pseudomonas putida* (Falconí et al. 2003).

En campo se determinó el efecto de estas tres bacterias antagonistas crecidas en medios líquidos en el control de *M. roreri* del cacao en cultivar CCN 51 y en el cultivar nacional Tenguel 25. Bajo estas condiciones *B. subtilis* y *P.*

cepacia redujeron significativamente la enfermedad, en un 66 y 34 %, respectivamente, en cacao Nacional; 46 y 47 % en CCN 51, en relación con el testigo absoluto (Falconí *et al.* 2003). Recientes investigaciones usando biopreparados formulados en turba, demostraron que *P. cepacia* y *B. subtilis*, redujeron la incidencia de *M. royeri* en un 76 y 86 %, respectivamente en comparación con el control negativo (Falconí *et al.* 2004). Peralvo y Saavedra (2005) realizaron estudios en Valencia provincia de Los Ríos, para el control de la moniliasis con microorganismos como *Bacillus subtilis* y *Pseudomona cepacia* logrando reducir la enfermedad en un 82 y 81 %. Robles (2008) en la última investigación realizada en cacao CCN-51 en Patricia Pilar provincia Tsáchila mediante el uso de los biopreparados a base de *Bacillus subtilis* y *Pseudomona cepacia* logró reducir la moniliasis en 69,56% y 70,86% respectivamente.

2.5.4.1.1. Características de *Bacillus subtilis*.

Bacillus subtilis pertenece al grupo de las eubacterias y a la familia Bacillaceae. Son bacterias que tienen forma de bacilos grandes Gram positivos que miden desde 0,3 a 2,3 micras de ancho y 1,2 a 7,0 micras de largo. Son aerobios y facultativamente anaerobios, forman endosporas (una por célula), además de ser termófilos. Son cilíndricos, generalmente flagelados, crecen en cadenas y forman colonias grandes e irregulares en los medios sólidos (agar nutritivo), se encuentran en los suelos y en los vegetales en putrefacción, interviniendo activamente en la descomposición de la materia orgánica (Buchanan, 1974).

Buchanan (1974), determina que esta bacteria se encuentra dentro del reino Prokaryota, debido a que son organismos unicelulares que tienen una membrana celular o bien una membrana y una pared celular rodeada de citoplasma; este último tiene pequeños ribosomas y material genético (ADN) que no están rodeados por una membrana, es decir, no están organizados en un núcleo; Filo Firmicutes; Clase Bacilli; Orden Bacillales; Familia Bacillaceae; Género *Bacillus*; Especie *B. subtilis*.

Existen diferentes cepas de *Bacillus subtilis* que pueden ser utilizadas como agentes de control biológico bajo diversas situaciones (NYSAES, 2006). En el mercado se encuentra una diversidad de productos a base de esta bacteria que son efectivos para el control de enfermedades causadas por *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Phythium*, *Phytophthora* y *Sclerotinia fruticola* (Ball, 2002 y NYSAES, 2006).

En el Ecuador se han evaluado formulaciones líquidas, sólidas y biopreparados a base de aislados nativos de *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas cepacia* para controlar la moniliasis del cacao, demostrando que estas disminuyen la incidencia de la enfermedad entre un 60 y 80 % (Falconí *et al.* 2003 y Yáñez, 2004).

En investigaciones a nivel agrícola se ha demostrado que *Bacillus subtilis* es especialmente activa en la descomposición y mineralización de sustancias orgánicas, colonización de raíces y producción de antibióticos (Bochow, 1992 y Dellat, 1993).

Todas estas características, junto con la posibilidad de manejarla como biopesticida estable han facilitado su uso como biocontrolador y estimulador de

crecimiento en cultivos como tomate, fréjol, plátano, frutales, trigo y arroz.

En el mercado existen una diversidad de productos efectivos a base de *Bacillus subtilis*, para el control de enfermedades causadas por *Rhizotocnia*, *Fusarium*, *Aspergillius*, *Alternaria*, *Phytophthora*, *Phytium* y otras (Bochow, 1992 y Rodríguez, 2002).

En el cacao, para el control de la moniliasis, aislados nativos de *Bacillus subtilis* reducen la enfermedad en 62 %, cuando se liberan como suspensión en el fitoplano. Se ha diseñado una tecnología eficiente para la propagación de este microorganismo en el laboratorio, junto con *Pseudomonas cepacia* (Yáñez, 2003).

Las características de biopreparado en base de Basubtil (*Bacillus subtilis*) son:

- 1) Acción fitosanitaria: Basubtil (*Bacillus subtilis*) es un fungicida biológico cuyo ingrediente activo es la bacteria *Bacillus subtilis*. La acción está dirigida al control profiláctico del hongo *Moniliophthora roreri* causante de la moniliasis, sin efectos secundarios para el hombre, animales domésticos o silvestres, insectos benéficos y planta.
- 2) Ingrediente activo: Bacteria *Bacillus subtilis*.
- 3) Formulación y concentración: Polvo mojable contiene 1×10^9 ufc/gr de *Bacillus subtilis* de soporte sólido (Vermiculita) (Yáñez, 2003).
- 4) Compatibilidad y tolerancia: Basubtil (*Bacillus subtilis*) es compatible con hormonas, fertilizantes foliares e insecticidas químicos como Hormonagro, Bluster H, Boroplus, Lorsban, Dimepac. No es compatible

con Basudin. Presenta leve tolerancia a los fungicidas químicos, Benlate y Bankit. No es compatible con los fungicidas Daconil, Bayleton, Store y Cobre Nordox (Falconí *et al.*, 2003).

- 5) Mecanismo de acción: Basubtil (*Bacillus subtilis*) tiene como modo de acción la multiplicación bacteriana sobre la superficie de la mazorca, y la producción de enzimas que degradan el micelio y esporas de *M. royeri*, en desmedro de su potencial de infección (Falconí *et al.* 2007).
- 6) Instrucciones de uso: La aplicación de Basubtil (*Bacillus subtilis*) se realiza con bomba manual o motor sobre la superficie de las mazorcas de cacao. Se aplica en dosis de 50 g para 12 litros de agua. No se debe mezclar con otros productos. Basubtil (*Bacillus subtilis*) debe prepararse y aplicarse el mismo día de la fumigación. En días soleados antes de las 11:00 y a partir de las 15:00, en días nublados durante todo el día. No aplicar contra el viento, ni en días lluviosos.
- 7) Almacenamiento: Conservar Basubtil (*Bacillus subtilis*) en refrigeración entre 2 y 9 grados centígrados.
- 8) Precauciones: Para aplicación utilizar equipos de protección. Manténgase fuera del alcance de los niños y animales domésticos. No fume o consuma alimentos durante la aplicación. Evítese inhalación del rocío y el contacto con la piel. Utilice guantes para manipular el producto (Yáñez, 2003).

2.5.4.1.2. Características de *Pseudomona cepacia*.

Pseudomona cepacia (en la actualidad *Burkholderia*) pertenece al género *Pseudomonas* que contiene más de 140 especies. Es un organismo Gram negativo fermentante productora de catalasas de amplia versatilidad nutricional. Es fácilmente aislable, crece sin dificultad en condiciones de laboratorio y es mutacionalmente versátil puede ser caracterizada sin dificultad (Yáñez, 2004; García, 2002).

Un mecanismo especialmente efectivo, típico de las bacterias pseudomonales, es el que les permite fijar Fe^{3+} de soluciones de concentraciones mínimas, por medio de sidéforos. Estos constituyen péptidos de bajo peso molecular, raramente aminoácidos, por consiguiente de alta estabilidad proteásica o lípida, relacionados con uno o más cromógenos, de grupos moleculares con quelatos de Fe, generalmente tienen caracteres quinódicos, que fluorescen bajo luz ultravioleta y bajo limitada presencia de Fe. El mecanismo de biocontrol se basa en su alta afinidad con Fe^{3+} , virtualmente le quitan a otros microorganismos iones vitales de Fe, dado la poca afinidad de enlaces metálicos de otros microorganismos: hongos, actinomicetes, plantas. En un sentido estricto, se pueden considerar los sidéforos, como un tipo de antibiótico, ya que en pequeñas concentraciones inhiben el crecimiento y otros procesos vitales de microorganismos (Falconí, 1997).

Pseudomonas (Burkholderia) cepacia tiene una alta frecuencia de aparición, en la mayoría de los casos estudiados (Hernández, 1998). En los últimos años, esta especie adquiere vital importancia en estudios relacionados con la agricultura, debido fundamentalmente a la producción de una amplia gama de metabolitos activos que

influyen positivamente sobre el crecimiento y desarrollo saludable de las plantas.

Se caracteriza por ser bacilos cortos Gram negativo, móviles y no formadoras de esporas, produce pigmentos no fluorescentes difusibles en el agar (piocinina) y acumula gránulos de poli- β hidroxibutirato (PHB) (Pallerony, 1984).

Existen cepas patogénicas y saprofitas, dado fundamentalmente por su gran diversidad genética. De aquí la importancia, de trabajar con su parte activa, es decir con los metabolitos secundarios que al parecer son los responsables de los efectos benéficos en plantas por lo que al eliminar la célula se evita cualquier problema de índole ecológico. Esta especie produce diferentes tipos de sideróforos (portador de hierro) (Meyer *et al.* 1989) y ácido indol acético.

El modo de acción de *Pseudomonas sp* incluye la inhibición del patógeno por competición por el hierro III (hipótesis de los sideróforos) o por productos volátiles o difusibles (antibiosis) y la inducción de resistencia en plantas (Meyer *et al.* 1995).

Pseudomonas (Burkholderia) cepacia se destaca por producir diferentes tipos de sideróforos, antibióticos, alcaloides quinolisídnicos de naturaleza antibiótica (Hernández *et al.*, 1999), ácido cianhídrico y ácido salicílico. En los últimos años se ha prestado especial interés a los sideróforos, como uno de los principales metabolitos implicados en la actividad de biocontrol.

Las características del biopreparado en base a Cepacide (*Pseudomonas cepacia*) son:

- 1) Acción fitosanitaria: Cepacide (*Pseudomonas cepacia*) es un fungicida biológico cuyo ingrediente activo es la bacteria *Pseudomonas cepacia*. La acción está dirigida al control profiláctico del hongo *Moniliophthora roreri* causante de la moniliasis, sin efectos secundarios para el hombre, animales domésticos o silvestres, insectos benéficos y planta.
- 2) Ingrediente activo: Bacteria *Pseudomonas cepacia*.
- 3) Formulación y concentración: Polvo humectable contiene 1×10^9 ufc/gr de soporte sólido (Turba Chimborazo) (Yáñez, 2003).
- 4) Compatibilidad y Tolerancia: Cepacide (*Pseudomonas cepacia*) es compatible con hormonas, fertilizantes foliares e insecticidas químicos como Hormonagro, Megafol, Bluster H, Ruben C1, Trinador, Codamix; Lorsban, Dimepac, Basudin. Presenta alta tolerancia a los fungicidas químicos Store, Benlate y Bayleton. Es moderadamente tolerante a Daconil y Bankit. No es compatible con Cuprosan y Cobre Nordox.
- 5) Mecanismo de acción: Cepacide (*Pseudomonas cepacia*) posee varios modo de acción que incluyen la inhibición del patógeno por competición de nutrientes o por productos volátiles, inducción de resistencia en plantas y se destaca por producir diferentes tipos de sideróforos, antibióticos, alcaloides de naturaleza antibiótica, ácido cianhídrico y ácido salicílico que son metabolitos implicados en la actividad de biocontrol.
- 6) Instrucciones de uso: la aplicación de Cepacide (*Pseudomonas cepacia*) se realiza con bomba manual o motor sobre la superficie de las mazorcas

de cacao. Se aplica en dosis de 50 g para 12 litros de agua. No se debe mezclar con otros productos. Cepacide (*Pseudomonas cepacia*) debe prepararse y aplicarse el mismo día de la fumigación. En días soleados antes de las 11:00 y a partir de las 15:00, en días nublados durante todo el día. No aplicar contra el viento, ni en días lluviosos.

- 7) Almacenamiento: Conservar Cepacide (*Pseudomonas cepacia*) en refrigeración entre 2 y 9 grados centígrados.
- 8) Precauciones: Para aplicación utilizar equipos de protección. Manténgase fuera del alcance de los niños y animales domésticos. No fume o consuma alimentos durante la aplicación. Evítese inhalación del rocío y el contacto con la piel. Utilice guantes para manipular el producto (Yáñez, 2003).

2.5.4.1.3. Mecanismo de acción de los biocontroladores.

Enríquez (2004) señala que los biopreparados son biorreguladores de plagas y enfermedades, además de ser promotores del crecimiento vegetal, y estos evitan la entrada de agentes patógenos, mediante la acción combinada de la producción de sustancias antimicrobiales y al establecerse exitosamente en las raíces lo que imposibilita la colonización de esta por algún microorganismo dañino, produce sustancias de tipo hormonal que estimulan el desarrollo del sistema radical, la aceleración en el reciclado de nutrientes y mejoran la resistencia sistémica.

En general los antagonistas no tienen un único modo de acción y la multiplicidad de modos de acción es una característica a seleccionar en un

antagonista. Se han descrito varios mecanismos de acción de los antagonistas para controlar el desarrollo de patógenos sobre fruta. Ellos son: antibiosis, competencia por espacio o por nutrientes, interacciones directas con el patógeno (micoparasitismo, lisis enzimática), e inducción de resistencia (Solís, 1999); Los cuales se describen a continuación:

a. Antibiosis.

Se refiere a la producción por parte de un microorganismo de sustancias tóxicas para otros microorganismos, como fungicidas, las cuales actúan en bajas concentraciones (menores a 10 ppm.). La antibiosis es el mecanismo de antagonismo entre microorganismos más estudiado (Yáñez, 2004).

b. Competencia.

Se puede definir competencia como el desigual comportamiento de dos o más organismos ante un mismo requerimiento, siempre y cuando la utilización del mismo por uno de los organismos reduzca la cantidad disponible para los demás. Un factor esencial para que exista competencia es que haya "escasez" de un elemento, si hay exceso no hay competencia. La competencia más común es por nutrientes, oxígeno o espacio (Yáñez, 2004).

c. Interacción directa con el patógeno.

Existen dos tipos de interacciones directas entre los antagonistas y los patógenos. Ellas son el parasitismo y la predación (Yáñez, 2004).

1. Parasitismo.

El término parasitismo se refiere al hecho de que un microorganismo parasite a otro. Puede ser definido como una simbiosis antagónica entre organismos. El parasitismo consiste en la utilización del patógeno como alimento por su antagonista. Generalmente se ven implicadas enzimas extracelulares tales como quitinasas, celulasas, b-1-3-glucanasas y proteasas que lisan o digieren las paredes de los hongos (Melgarejo, 1989; Ulhoa, 1996).

2. Predación.

En el caso de la predación el antagonista se alimenta de materia orgánica entre la cual ocasionalmente se encuentra el patógeno. No ha sido un mecanismo de acción muy importante en el desarrollo de agentes de biocontrol. Los reportes más conocidos citan la presencia de amebas en suelos supresores de enfermedades las cuales se alimentan de las hifas (cuerpos) de hongos patógenos entre otras fuentes de alimento (Campbell, 1989).

d. Resistencia.

Las plantas como otros seres vivos del planeta han pasado por un proceso evolutivo desde su aparición sobre la tierra lo que les llevó a desarrollar mecanismos de defensa muy poderosos contra sus invasores. De esta forma se acostumbra a postular que la resistencia es la regla mientras que la susceptibilidad es la excepción. Si elegimos una planta cualquiera y comparamos el inmenso número de microorganismos que existe en su entorno

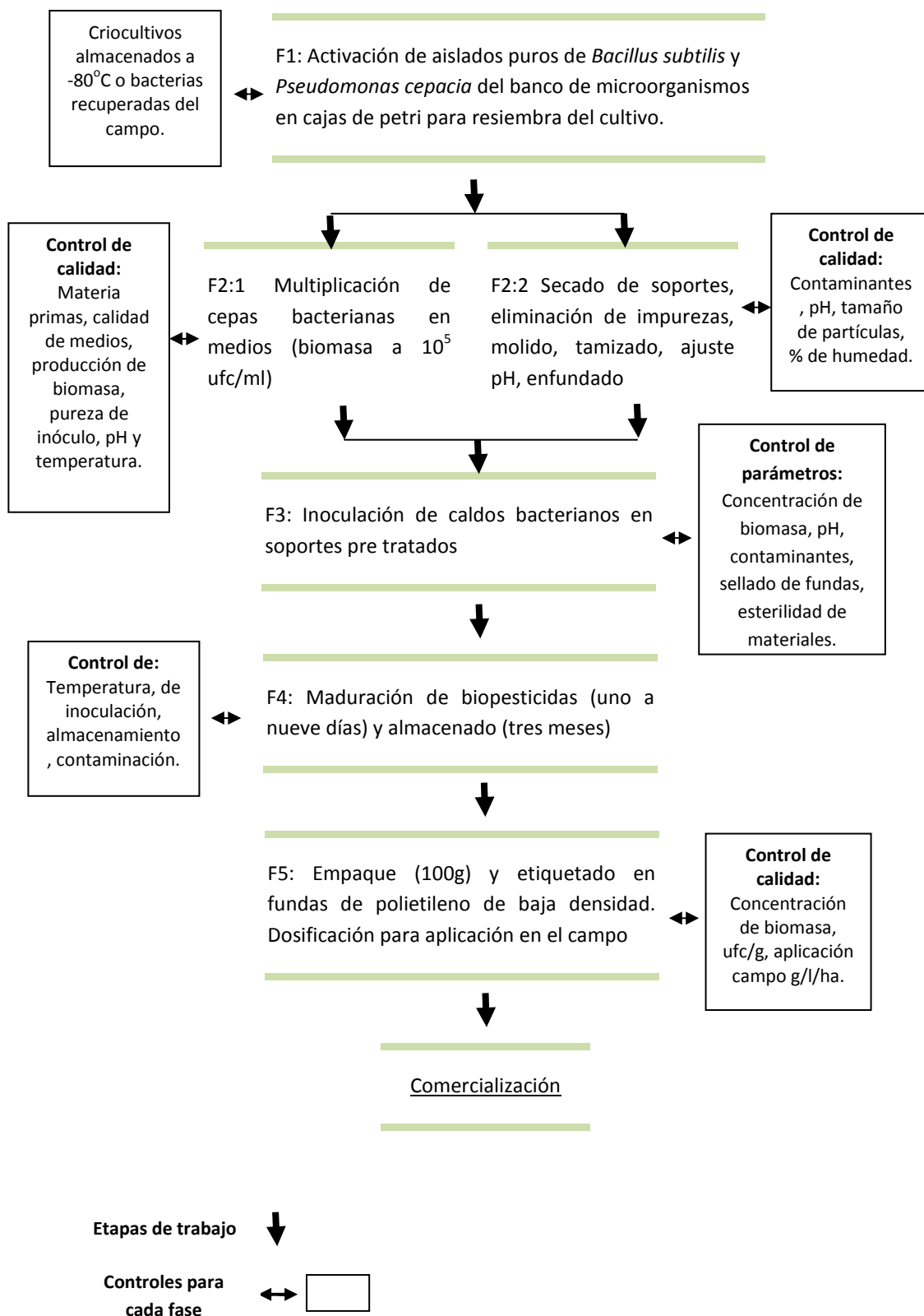
sobre la tierra con el limitado número de microorganismos patógenos de ella debemos concluir que esto es así. Las plantas presentan entonces mecanismos bioquímicos y físicos o estructurales de resistencia. Todos ellos gobernados genéticamente (Solís, 1999).

2.5.4.1.4. Producción y formulación de biopreparados a base de *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas cepacia*

Se han realizado estudios previos de caracterización taxonómica, crecimiento en medios enriquecidos, pruebas de eficiencia contra *M. royeri* en laboratorio y campo, conservación de microorganismos, selección, evaluación y acondicionamiento de soportes.

Con la información recopilada y en base a las disponibilidades tecnológicas, se ha establecido un sistema de producción artesanal en soportes sólidos. Además parámetros como temperatura de incubación, almacenamiento, esterilidad, determinación de contaminantes y concentración de biomasa se acoplaron dentro de cada una de las fases del sistema como control de calidad (Yáñez, 2003).

La metodología desarrollada por Falconí C.E.; Yáñez V., (2007) para la producción y formulación de biopreparados se describe en forma resumida a continuación:



Fuente: Validación de biopesticidas para el control de la Moniliasis y manejo sustentable del cacao fino de aroma en el Ecuador (Falconí, CE; Yáñez, V. 2007).

Figura 2. Esquema del proceso para la producción y formulación de biopesticidas a base de las bacterias *Pseudomonas cepacia* y *Bacillus subtilis*.

2.5.4.1.5. Validación de biopreparados

La validación es una prueba de ajuste que se hace a nivel de finca, a las tecnologías que han sido generadas en los centros de experimentación, con el manejo del productor y en las condiciones que se desenvuelve (Castro *et al.*2000).

La validación y transferencia de tecnología es la vía correcta para llegar a los productores, ya que es un proceso continuo mediante el cual se mide la eficiencia de las nuevas tecnologías, utilizando procedimientos adoptivos y de ajustes a las circunstancias socioeconómicas y agrobiológicas del área, de los sistemas de producción y de las experiencias de los propios agricultores, quienes participan activamente en su desarrollo (Solís, 1999).

2.5.4.2. Fosfitos como Inductores de Resistencia

Los Fosfitos fueron creados en la década del 30 como nutrientes alternativos hasta que se detectó que no eran tan efectivos como los fertilizantes de suelo (Mengdehl, 1933).

Posteriormente se descubrió que poseían una alta movilidad simplástica (traslocación por ambas vías, xilema y floema) y actividad contra Plasmpsis vitícola (Bugaret *et al.* 1980) y oomycetes (Bruin & Edgington, 1983). Guest & Grant (1991) postulan que los Fosfitos tiene un complejo modo de acción. Por un lado, disminuyendo el crecimiento del patógeno e inhiben la esporulación, producido por una acción fungistática directa.

Esto estaría influenciado por la concentración del Fosfito en la planta huésped y la efectividad de cualquier sistema de oxidación del Fosfito en la planta. Las alteraciones metabólicas del patógeno conducirían a la inhibición de supresores (origen fúngico) de la respuesta de defensa en las plantas, liberando inductores expuestos a receptores en la célula huésped. Por otro lado, también actuarían directamente sobre la planta huésped activando los mecanismos de defensa relacionados con barreras mecánicas y químicas.

La efectividad de estos compuestos en la planta está relacionada con:

1) El tiempo de aplicación que debe coincidir con un particular estadio de crecimiento de la planta; 2) La edad de la planta, plantas más jóvenes tienen mayor traslocación; 3) Y condiciones climáticas: por alta temperatura y baja humedad, se evapora, y no entra a la planta; y por baja temperatura, se reduce la actividad fisiológica de la planta, y no se trasloca.

Estudios en cultivares industriales de papa indicaron que mediante cuatro aplicaciones del fungicida Fosetyl-Aluminio a follaje en estadios de crecimiento vegetativo (20 días de emergencia) y tuberación (55 días de emergencia) se obtiene una significativa protección 80% al tizón tardío con 15 días de persistencia con dosis de 6lt/ha^{-1} (Andreu, & Daleo, 2005). Por otra parte Andreu (2007) evaluó el efecto de fosfito de Ca y K en papa a campo abierto con tratamientos al follaje en los cultivares Bannock Russet (BR), Gem Russet (GR) y Shepody (SH), a la dosis $3\text{lt}\cdot\text{ha}^{-1}$, donde obtuvo una protección al tizón tardío del 80% con una persistencia de

14 días en los primeros 60 días de emergencia.

Estudios similares en viveros de brinzales de encina y alcornoque para controlar la podredumbre de raíz causado por *Phytophthora cinnamomi* mostraron que con una dosis de 0,15mg/planta de fosfito se logra controlar totalmente la infección del patógeno dando resultados negativos al reaislamiento de la especie fúngica inoculada en este tratamiento, además notaron mayores concentraciones de N ($6,9\text{mg/g}^{-1}$); P ($0,5\text{ mg/g}^{-1}$) y K ($3,5\text{ mg/g}^{-1}$) siendo más destacable la del P que fue un 60% superior a los demás tratamientos, mientras que un tratamiento llamado *Phytophthora* presentó una concentración de K ($4,5\text{mg/g}^{-1}$) y Ca ($11,2\text{ mg/g}^{-1}$) menor y mayor de Mg ($3,2\text{ mg/g}^{-1}$) a diferencia de los otros tratamientos Navarro (2004). Por su lado Guevara (2006), evaluó la supresión de la marchitez del algodonero causado por *Fusarium oxysporum* en sistema hidropónico mediante el uso de fosfito de potasio al 84% en una concentración del 0,3% obteniendo un porcentaje de supresión del 68,69% de la enfermedad.

2.5.4.2.1. Fosfito de Calcio (CODAPHOS Ca)

Información general del producto:

Codaphos Ca es una formulación líquida de fosfito cálcico (243 g/L). El calcio presente en su formulación actúa sinérgicamente con el fosfito, aumentando la eficacia de asimilación y transporte del calcio en la planta, corrigiendo las carencias de calcio que provocan desórdenes nutricionales en los cultivos: Bitter Pit en manzanas, Blossom end Rot o peseta en tomate y pimiento, Tip Burn en lechuga,

Cracking o rajado en nectarina y naranja, etc. Es fácilmente absorbido y distribuido por toda la planta.

El ion fosfito potencia el sistema natural de defensa de la misma; tiene acción fúngica sobre hongos productores de Mildius y poder preventivo/curativo de ciertas enfermedades criptogámicas como *Phytophthora* (responsable del aguado en cítricos y podredumbres de cuello en cultivos leñosos) y *Pythium*.

Cuadro 3.Composición química CODAPHOS Ca

RIQUEZAS GARANTIZADAS:		
	% P/P	% P/V
Anhídrido fosfórico P2 S5 soluble en agua	16%	19%
Oxido de calcio (CaO) soluble en agua	5%	6%

Dosis y estados de aplicación:

Se recomienda aplicar el producto en épocas de crecimiento activo para que tenga una buena distribución por la planta.

Cuadro 4. Dosis de aplicación recomendada para varios cultivos

Cultivo	Dosis	Aplicaciones foliares
Hortícolas (hoja): Lechuga, escarola, etc.	250-300 cc/hl (2.5-3 L/ha)	1a. aplicación: Inicio del cultivo, repetir cada 15/20 días.
Hortícolas (fruto): Tomate, pimiento, etc.	250-300 cc/hl (2.5-3 L/ha)	1a. aplicación: Inmediatamente después del cuaje en cada pomo floral.
Cítricos	250-300 cc/hl (3 L/ha)	Problema de rajado: 2-3 aplicaciones desde el cuajado del fruto hasta la recolección. En variedades como <i>Fortuna</i> , etc., problema de contenido en calcio, se recomiendan tres aplicaciones después de la porga hasta el cambio de color.
Frutales: Nectarina, cereza, manzana, etc.	250-300 cc/hl (3 L/ha)	1a. aplicación inmediatamente después del cuajado, las otras aplicaciones cada 15 días aproximadamente.
Ornamentales	250-300 cc/hl (2-3 L/ha)	De dos a tres aplicaciones.

Fertirrigación: 4-5 L/ha-aplicación, 2/4 aplicaciones durante el ciclo de cultivo.

Incompatibilidad: Ninguna conocida, pero se recomienda realizar pruebas previas antes de mezclar el producto. Se recomienda no mezclar con dimetoatos, cobres ni productos de reacción alcalina. Se recomienda su aplicación bajo asesoramiento técnico agronómico.

2.5.4.2.2. Fosfito de Zinc (CODAPHOS Zn)

Información general del producto:

Codaphos Zn es una formulación líquida de fosfito de zinc. El zinc presente en su formulación actúa sinérgicamente con el fosfito, proporcionando una correcta nutrición de este elemento al cultivo, de forma que la cantidad de zinc disponible es

suficiente para que el cultivo pueda realizar aquellas funciones en las que este elemento juega un papel clave, como gran número de procesos enzimáticos, formación de triptófano (y el proceso de crecimiento de los vegetales relacionados), formación de almidón, efectos antioxidantes, etc.

El producto es fácilmente absorbido y distribuido por toda la planta. El ion fosfito potencia el sistema natural de defensa de la misma contra patógenos, tiene acción antifúngica contra hongos productores de "mildius" y poder preventivo/curativo sobre ciertas enfermedades criptogénicas como Phytophthora (responsable del aguado en cítricos y podredumbres de cuello en cultivos leñosos) y Pythium.

Instrucciones de uso:

Se recomienda aplicar el producto en época de crecimiento activo para que tenga una buena distribución en la planta. Es muy recomendable en aquellas situaciones en las que las condiciones ambientales propicien el desarrollo de hongos.

La dosis media recomendada para aplicación foliar es:100-200 cc/HI. (1-2 L/ha), con un número de aplicaciones de 1-3.

Incompatibilidad: Ninguna conocida, pero se recomienda realizar pruebas previas antes de mezclar el producto. Se recomienda no mezclar con dimetoatos, cobres ni productos de reacción alcalina. Sólo deberá mezclarse con productos registrados en cultivos autorizado.

III. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. UBICACIÓN POLÍTICA

La preparación y control de calidad de los biopreparados se realizó en el laboratorio de Control Biológico del Departamento de Ciencias de la Vida, Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias – IASA I, de la Escuela Politécnica del Ejército (ESPE), ubicado en la Hacienda El Prado, barrio San Fernando, Cantón Rumiñahui, Provincia de Pichincha, Ecuador.

La fase de Campo para evaluación de las “MEDIDAS DE CONTROL DE BAJO IMPACTO AMBIENTAL PARA MITIGAR LA MONILIASIS (*Moniliophthora roreri* Cif. y Par. Evans et al.) EN CACAO HIBRIDO NACIONAL X TRINITARIO se realizó en la Finca Colinas Garyth, en la Provincia Santo Domingo de lo Tsáchilas, Cantón Santo Domingo, Parroquia Valle Hermoso.

3.5. UBICACIÓN GEOGRÁFICA

La Finca Colinas Garyth productora de cacao, se ubica en las Coordenadas UTM “S 007 057 y W 7915 529”.

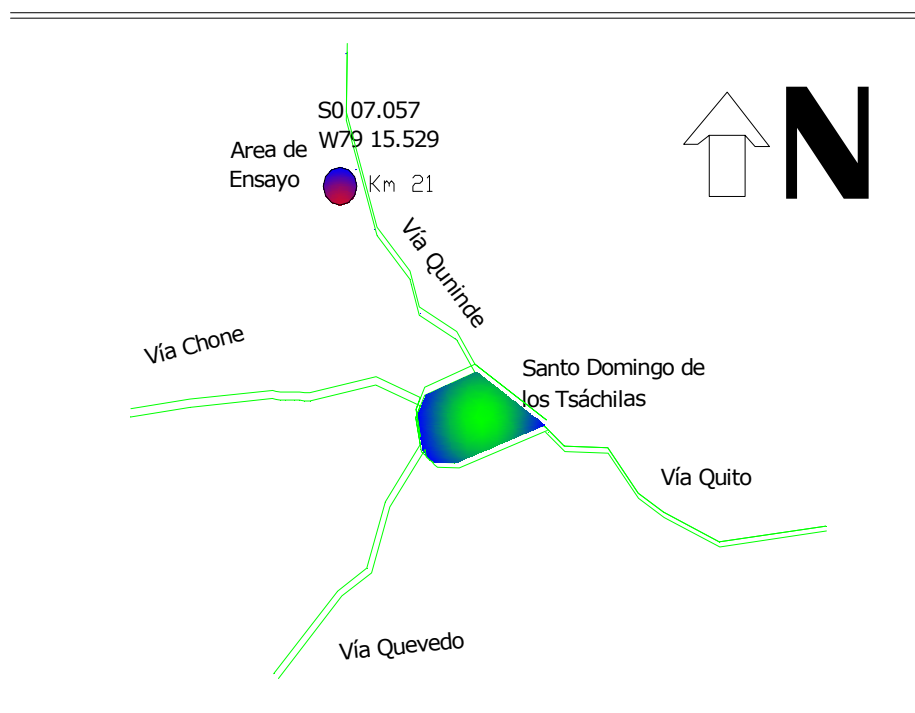


Figura 3. Ubicación de la Finca Colinas Garyth, coordenadas UTM S 007 057 y W 7915 529. Punto azul - rojo indica la ubicación del ensayo.

3.6. MATERIALES.

3.6.1. Materiales de Laboratorio

Bacillus subtilis IASA – ESPE; *Pseudomona cepacia* IASA – ESPE; turba Chimborazo; vermiculita; cloruro de sodio 1%; agar plate count (PCA); agar; agar nutritivo; triptona; cajas petri; mecheros; pH metro digital; estufa; agua destilada;

fundas plásticas de basura; papel periódico; sellador de plástico; autoclave; papel aluminio; papel toalla; peptona caseína; fosfato de potasio dibásico (K_2HPO_4); extracto de levadura; glucosa; aceite de vaselina; alcohol antiséptico; microondas; tubos de ensayo; refrigerador; cámara de flujo laminar; escala de turbidez MacFarland; incubador – agitador orbital horizontal; fundas de plástico de polietileno (0,05mm); zaranda malla # 100; frascos con tapa de 500 ml; asas de transferencia; bisturí; parafilm; jeringas de 10 y 60 ml; toneles plásticos etiquetados; molino de martillo; recipientes plásticos; balanza electrónica.

3.6.2. Materiales de Campo

Hojas de papel bond; plano de campo (mapa); marcadores; apoya manos; lápiz porta minas; minas.; borradores; machetes; etiquetas plásticas para árboles (7 colores diferentes por tratamiento); etiquetas plásticas indicador de árboles de parcelas netas; tijeras; masking tape; tijeras podadoras; podón; baldes para preparar tratamientos (22 l.); baldes para agua (2 l.); tanque de 200 litros; fundas de plástico; costales de recolección; fundas de 100 g de Basubtil (*Bacillus subtilis*); fundas de 100 g de Cepacide (*Pseudomonas cepacia*); fijador agrícola; azúcar morena; Cuprofix; jeringas de 10 y 60 ml; cucharas plásticas para medir productos; grasa esterilizada; guantes quirúrgicos; bomba de fumigación y equipo de protección; combustible (Aceite y gasolina) respectivamente; savlon para desinfectar las manos; alcohol antiséptico; atomizadores; caja de bandas indicadoras de pH; balanza.

3.7. MÉTODOS

3.7.1. Características del campo experimental

Para la investigación en Campo se seleccionó el Lote #5 de la Finca Garyth, de Cacao Nacional x Trinitario, sus árboles tenían tres años de edad y se encuentra en producción.

3.7.2. Periodo de estudio y características agroclimáticas

La elaboración de los biopreparados se realizó en los meses de Agosto y Septiembre del año 2010.

El efecto de los diferentes tratamientos sobre la Monilia en el campose efectuó por el lapso de un año, durante las fases climatológicas de invierno y verano con las siguientes condiciones climáticas.

Cuadro 5. Características agroclimáticas de la finca Garyth, ubicada a 250 m.s.n.m.

MES / AÑO	TEMPERATURA	PRECIPITACIÓN	HUMEDAD RELATIVA
OCTUBRE. / 2010	24,00	13,70	87,50
NOVIEMBRE. / 2010	23,47	99,40	88,80
DICIEMBRE. / 2010	23,93	405,40	89,35
ENERO. / 2011	24,90	789,90	88,40
FEBRERO. / 2011	25,80	219,20	84,90
MARZO. / 2011	26,00	447,00	84,60
ABRIL. / 2011	26,20	391,50	86,40
MAYO. / 2011	25,70	91,90	87,40
JUNIO. / 2011	25,40	119,2	88,00
JULIO. / 2011	25,10	113,50	87,40
AGOSTO. / 2011	24,50	29,00	86,70
SEPTIEMBRE. / 2011	24,90	65,00	85,80
OCTUBRE. / 2011	24,10	48,30	85,00
\bar{X}	24,92	217,92	86,94

* Datos tomados de la estación meteorológica INIAP – Santo Domingo (medias mensuales durante el período Octubre 2010 – Octubre 2011).

3.7.3. Factores en estudio

En la investigación se validaron las siguientes medidas de bajo impacto ambiental para controlar la Moniliasis (*M. royeri*).

- Biopreparados basados en
 - Basubtil (*Bacillus subtilis*) IASA – ESPE.
 - **Dosis:** 242 g/ha
 - **Frecuencia de Aplicación:** cada 21 días.
 - Cepacide (*Pseudomonas cepacia*) IASA – ESPE.
 - **Dosis:** 242 g/ha
 - **Frecuencia de Aplicación:** cada 21 días.
- Inductores de resistencia a base de:
 - Fosfito de Calcio. (CODAPHOS Ca) –(Sustainable Agro Solutions S.A, (SAS))
 - **Dosis:** 2 L/ha
 - **Frecuencia de Aplicación:** cada 21 días.

- Fosfito de Zinc. (CODAPHOS Zn) - (Sustainable Agro Solutions S.A, (SAS))
 - **Dosis:**2 L/ha
 - **Frecuencia de Aplicación:** cada 21 días.

- Remoción de Frutos Enfermos en el lapso de tiempo:
 - Cada 8 días
 - Cada 15 días

- Fungicida químico sintético a base de Sulfato de Cobre (CUPROFIX)
 - **Dosis:**500g/ha.
 - **Frecuencia de Aplicación:** cada 21 días.

3.7.4. Tratamientos

Los tratamientos lo conformaron dos biopreparados, dos inductores de resistencia, dos periodos de remoción de frutos enfermos y un control químico, con tres repeticiones por tratamiento, para obtener un buen nivel de confiabilidad en los datos generados.

Cuadro 6. Tratamientos en estudio

TRATAMIENTOS	CÓDIGO	DESCRIPCIÓN
T1	BP1	Basubtil (<i>Bacillus subtilis</i>) IASA – ESPE.+ Fijador Agrícola 0,05 % + Azúcar Morena
T2	BP2	Cepacide (<i>Pseudomonas cepacia</i>) IASA – ESPE + Fijador Agrícola 0,05 % + Azúcar Morena
T3	PO1	Fosfito de Zn (Codaphos Zn) + Fijador Agrícola 0,05 % + Azúcar Morena
T4	PO2	Fosfito de Ca (Codaphos Ca) + Fijador Agrícola 0,05 % + Azúcar Morena
T5	RD1	Remoción de Frutos Enfermos cada 8 días
T6	RD2	Remoción de Frutos Enfermos cada 15 días
T7	CF	Cuprofix (Hidróxido de cobre + Mancozeb)* + Fijador Agrícola 0,05 % + Azúcar Morena

* Fungicida de uso común para el control de moniliasis entre los agricultores de la zona de Santo Domingo de los Tsáchilas.

3.7.5. Variables

Las medidas de bajo impacto ambiental se evaluaron durante un periodo de producción de ocho meses, diez días, a partir de la sexta aplicación de los tratamientos; Así se determinó la capacidad de controlar la moniliasis durante las etapas de invierno y verano en mazorcas que llegaron a la maduración.

3.7.5.1. Incidencia externa.

Se evaluó la incidencia en cada parcela útil, calificando a las mazorcas en base a la siguiente escala ordinal; cero (0) a las mazorcas sanas y uno (1) a las mazorcas afectadas por el hongo.

Las evaluaciones se efectuaron cada dos semanas, en mazorcas marcadas de quince árboles previamente identificados por cada parcela neta.

3.7.5.2. Severidad de moniliasis en mazorcas de cacao.

Los síntomas de *M. royeri* se evaluaron en base a la escala de severidad propuesta por Sánchez y Gonzáles (1989): 0 mazorca sana; 1-2 deformación y puntos aceitosos, 3-6 mancha chocolate, 7-10 frutos esporulados y momificados, cada dos semanas en mazorcas infectadas de quince árboles por parcela neta.

Estos valores fueron la base para calcular el Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE) (Landeo, 1998).

3.7.5.3. Daño interno.

En cada parcela neta, de quince árboles identificados se evaluó el daño interno de mazorcas de cacao afectadas por *M. royeri*, separando granos sanos de enfermos y expresando su peso en porcentaje. Estas evaluaciones se realizaron cada dos semanas, considerando todas las mazorcas cosechadas por árbol.

3.7.5.4. Peso de frutos.

Se recolectaron las mazorcas maduras de todos los árboles de cada parcela neta. Estas se abrieron con la ayuda de un machete y se procedió a extraer la almendra.

Primero se pesó el total de almendra y posteriormente se seleccionó y pesó la almendra dañada de cada parcela neta, cada dos semanas.

3.7.5.5. Conteo de mazorcas sanas; cherelles, juveniles y mazorcas enfermas.

Se conto los frutos con síntomas de moniliasis, clasificándolos en cherelles, juveniles, mazorcas y posteriormente las mazorcas sanas de todos los arboles de cada parcela neta cada dos semanas.

3.7.5.6. Datos climatológicos

Los datos climatológicos diarios fueron colectados de la Estación Meteorológica INIAP La Concordia, Santo Domingo de los Tsáchilas, y se calculó la precipitación acumulada mensual, la media mensual de humedad relativa promedio y temperatura, con la finalidad de correlacionar con los promedios de daño interno de cada tratamiento.

3.7.6. Procedimiento

a. Análisis estadístico

Se aplicó siete tratamientos con tres repeticiones, con un total de ciento sesenta y cinco árboles por cada tratamiento, en los que se evaluó la producción acumulada

de cada parcela neta por cosecha a partir de la sexta hasta la décima novena aplicación de los tratamientos.

b. Características de las unidades experimentales

La plantación fue sembrada a tres bolillo en disposición de norte a sur con una distancia de 3,8 x 3,8 m. La delimitación de los tratamientos se realizó en diagonal en relación a la siembra, por lo que el área y el número de árboles por parcela fue la siguiente:

- ✓ Unidades experimentales: 21
- ✓ Área del ensayo: 14438,97 m².
- ✓ Área de la parcela total: 687,57 m².
- ✓ Área de la parcela neta: 187,58 m².
- ✓ Forma de la parcela: Rectangular
- ✓ Distancia entre parcela: 3,54 m.
- ✓ Número de plantas por parcela total: 1155
- ✓ Número de plantas por tratamiento: 165
- ✓ Número de plantas por parcela unitaria: 55
- ✓ Número de plantas de parcela neta: 15
- ✓ Esquema:

En las figuras 4 y 5 se presenta la parcela total y neta con sus respectivas dimensiones:

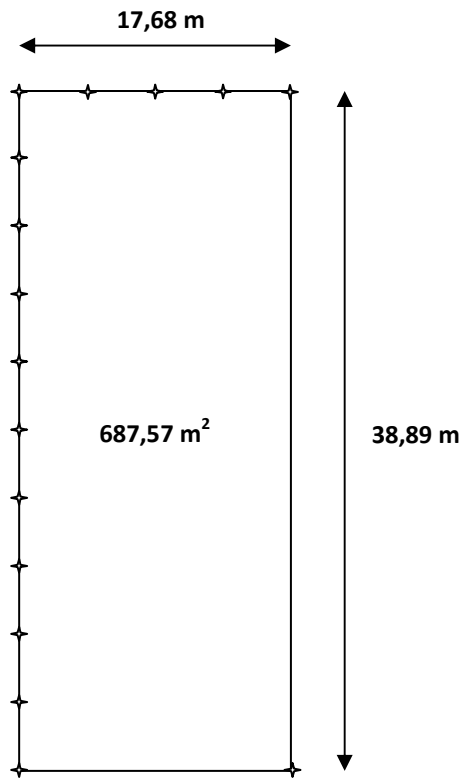


Figura 4. Dimensiones de la parcela Total

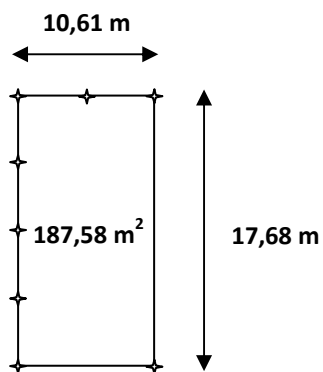


Figura 5. Dimensiones de la parcela neta

c. Diseño Experimental

Diseño de Bloques Completamente al Azar, con arreglo en parcela dividida donde los tratamientos fueron las parcelas grandes y las evaluaciones las parcelas pequeñas, como se indica:

Cuadro 7. Esquema del ADEVA

Fuentes de Variación	Grados de Libertad
Tratamientos	6
Bloques	2
Error (a)	12
Evaluaciones	18
Trat.*Eval.	108
Error (b)	252
Total	398

$$\text{Coeficiente de variación} = \frac{\sqrt{\text{CMEE}}}{\bar{X}} * 100$$

Con los datos colectados se realizó un ADEVA, las medias se compararon mediante la prueba de TUKEY al 0,05 % cuando los tratamientos o evaluaciones fueron significativos, usando el programa estadístico INFOSTAT PROFESIONAL

3.4.7 Actividades realizadas para la evaluación de medidas de bajo impacto ambiental en el campo

Las actividades se realizaron en el siguiente orden:

a. Selección del lote experimental

El campo experimental estuvo ubicado en el lote # 5 de la Finca Colinas Garyth (Anexo1).

b. Selección de parcelas demostrativas

Se seleccionaron tres parcelas demostrativas dentro del lote para realizar la evaluación de cada medida de bajo impacto ambiental para mitigar la moniliasis(Anexo 1).

c. Delimitación de parcelas demostrativas

Las veinte y uno parcelas (tratamientos y repeticiones) se delimitaron utilizando cintas de plástico, postes de *Guadua angustifolia* y estacas de *Gliricidia sepium* (Anexo2).

d. Análisis de suelo y foliar

Como complemento a las labores de cultivo se realizó un análisis de suelo y foliar del lote seleccionado para conocer el estado nutricional del cultivo y determinar las necesidades de fertilización.

Con la finalidad de obtener datos confiables, se recolectaron seis submuestras para el análisis foliar y de suelo respectivamente, las cuales se enviaron a un laboratorio (Anexo 3).

e. Poda de mantenimiento

Como actividad preliminar a la instalación del ensayo, se realizó una poda de mantenimiento, actividad que se realiza usualmente cada 4 meses en cacao Nacional, por su alta capacidad de producir follaje, además sirve para eliminar tejido enfermo y mantener la arquitectura de los árboles (Anexo 4).

f. Podas fitosanitarias

Con el propósito de evitar el aumento de presión de inóculo de cualquier patógeno se procedió a realizar la poda fitosanitaria de forma manual, eliminando cherelles muertos, ramas afectadas con escoba de bruja, plantas epífitas, mazorcas atacadas visualmente por *M. rozeri*. La extracción de todo material enfermo o muerto se lo realizó con ayuda de tijeras desinfectadas previamente antes de pasar de un árbol a otro (Anexo 5).

g. Cosecha de mazorcas

Se recolectaron las mazorcas fisiológicamente maduras de los árboles señalados y se extrajeron sus almendras con ayuda de un machete, la cosecha se realizó con frecuencia de dos semanas a partir de la sexta aplicación de los productos ó medidas a evaluar (Anexo 6).

h. Pesaje de mazorcas

Se pesaron por separado almendras sanas y dañadas cada dos semanas considerando los árboles identificados para evaluación (Anexo 7).

i. Preparación de los biopreparados

Se colocó seis litros de agua en un recipiente al que luego se añadió 50 g de biopreparado. Posteriormente se filtró la suspensión en una tela de lienzo para luego añadir 30g de azúcar morena y 15cc de fijador agrícola, agitando hasta obtener una mezcla homogénea.

Una vez lista la mezcla se procedió a verter 2 l. de biopreparado en una bomba nebulizadora y se aforó con agua hasta 20 litros, para cada repetición (Anexo 8).

j. Aplicación de los biopreparados

Se aplicaron los biopreparados hasta llegar al punto de escurrimiento sobre mazorcas, cherelles, cojinetes florales y tallos principales, cada tres semanas (Anexo 9).

k. Preparación de los inductores de resistencia a base de fosfitos (Codaphos Ca y Codaphos Zn) de la empresa española CODA

En dos recipientes separadamente se colocó 2 l de agua y se agregó el fosfito de Ca (Codaphos Ca) y el fosfito de Zn (Codaphos Zn), en una dosis de 2,5 cc de producto comercial por árbol, respectivamente, además se adicionó 5 cc de fijador agrícola, 10 g de azúcar morena y se agitó hasta obtener una mezcla homogénea. La mezcla se colocó en una bomba de mochila hasta completar la capacidad de 20 litros, para cada repetición (Anexo 8).

l. Aplicación de Codaphos Ca y Codaphos Zn.

Se aplicaron los inductores de resistencia cada tres semanas, sobre las mazorcas hasta el punto de escurrimiento con la utilización de una bomba de mochila, en horas de la mañana (Anexo 9).

m. Preparación del producto químico (Cuprofix)

En un recipiente con 2 l de agua se agregó el fungicida Cuprofix en una dosis de 0,63gpor árbol, se adicionó 5 cc de fijador agrícola,10 g de azúcar morena y se agitó hasta obtener una mezcla homogénea. La mezcla se colocó en una bomba de mochila hasta completar la capacidad de la misma para cada repetición (55 árboles) (Anexo 8).

n. Aplicación de Cuprofix

Se aplicó el tratamiento químico cada tres semanas, sobre las mazorcas hasta el punto de escurrimiento con la utilización de una bomba de mochila, en horas de la mañana(Anexo 9).

o. Control de malezas

Se controló las malezas de forma mecánica cada cuatro semanas, en los periodos de septiembre a enero y de forma química cada cinco semanas los meses de enero a julio mediante el uso de glifosato en dosis de 750 ml de producto comercial + 120 de ácido cítrico en tanque de 200 l de agua, en el lote en estudio (Anexo 10).

3.4.8. Producción de biopreparados

Las actividades que se realizaron para la producción de biopreparados en la fase de laboratorio fueron en base de la metodología desarrollada por Yánez (2003).

Para la producción y formulación de biopreparados, el método seleccionado mediante producción artesanal en estado sólido y su formulación en Turba/Vermiculita más caldo enriquecido. La metodología se describe a continuación:

a. Acondicionamiento de soportes

Se realizó el secado del soporte al ambiente y la eliminación de impurezas con una zaranda número 30 (equivalente a 28 mesh). Se procedió a la molienda del soporte con un molino de martillo para lograr el tamaño adecuado de las partículas, luego se pasó por un tamiz de 100 mesh.

Se colocó 100 g de soporte procesado en una funda de plástico de polietileno dejándola abierta 1 cm para inocular los caldos de las bacterias. El sellado completo se realizó posteriormente.

Las fundas selladas se envolvieron en papel periódico y se colocaron en autoclave por tres ocasiones consecutivas a 121 °C, durante 20 minutos cada vez(Anexo 13).

b. Preparación de aislados de *Pseudomonas cepacia* y *Bacillus subtilis*

Se repicaron aislados del banco de microorganismos del proyecto Monilia – Carrera de Ciencias Agropecuarias IASA I /ESPE Sangolqui, en

cajas petri con agar nutritivo y se incubaron por 24 horas, a 28 °C(Anexo 14).

c. Preparación de inóculo bacteriano

Se prepararon las suspensiones bacterianas a una concentración entre $1,5 \times 10^9$ a $2,1 \times 10^9$ ufc/ml, en tubos de ensayo, con 5 ml de solución salina estéril.

Se inoculó la suspensión preparada en caldo 6B a razón de 1 ml por cada 100 ml de medio.

Los cultivos bacterianos se incubaron de 36 a 48 horas a 28 °C, en agitación continua, mediante un agitador orbital horizontal a 60 r.p.m. hasta que el cultivo bacteriano alcanzó una población de 10^9 ufc/ml.



Figura 6. Suspensiones bacterianas

d. Inoculación de caldos bacterianos

En cada funda de 100 g con soporte pre - tratado se inocularon 70 ml de cultivo bacteriano.



Figura 7. Inoculación de caldo bacteriano en Turba de Chimborazo pre – tratada.

e. Maduración de biopreparados

Las fundas con el material inoculado se incubaron a 28 °C, durante ocho días. Cada tres días se homogenizó el material, de forma manual.

f. Empaque y etiquetado

Se utilizaron fundas de plástico de polietileno de 0,05 mm de espesor (baja densidad). En la etiqueta se indicó las características del producto, concentración, modo de preparación y precauciones para su uso y aplicación. (Yanez, 2003)



Figura 8. Empaque y etiquetado

3.4.9. Control de calidad de biopreparados

a. **Cuantificación de población bacteriana.**

Se determinó la población bacteriana mediante siembra en agar, PCA y conteo de ufc/g de biopreparado aplicando el Método Dilución y Plateo. En una funda plástica estéril se colocó 10 g de biopreparado y 90 ml de solución salina estéril. A partir de esta solución madre se realizaron diluciones sucesivas desde 1×10^{-1} hasta 1×10^{-5} . Se seleccionaron las diluciones 1×10^{-2} , 1×10^{-3} , 1×10^{-4} , 1×10^{-5} de los que se tomaron alícuotas de 100 μ l y se inocularon en las cajas petri con agar PCA. Estas se incubaron por 41 horas a 25,1 °C (Anexo 15).

Para determinar el número de ufc/g, aplicando el método de dilución y plateo se utilizó la siguiente fórmula (Falconí, 1998):

$$\text{Población viable} = (\text{Factor de Dilución} * \# \text{ colonias}) / (10 \text{ g} * 100 \text{ ul}) = \text{ufc} / \text{g} * \text{ul}$$

- **Factor de Dilución** = $1 * 10^5$
- **100 ul** = 0,1 ml

b. Pureza de biopreparados

La pureza de los biopreparados se comprobó en agar PCA selectivos para bacterias de los géneros *Bacillus* Gram (+) y *Pseudomonas* Gram (-).

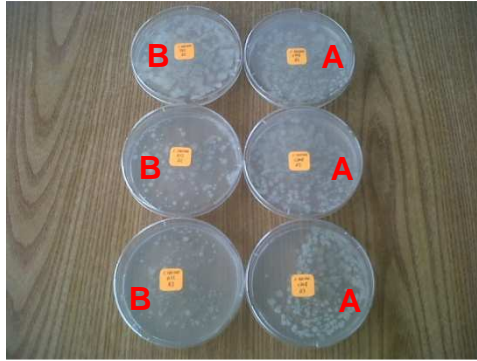


Figura9. Pureza de biopreparados. (A) Basubtil y (B) Cepacide

c. Determinación de pH de biopreparados.

De una funda de 100g de biopreparado se extrajo 50 g y se colocó en Erlenmeyers de 500 ml con 450 ml de agua destilada y se midió el pH con el pHmetro. (Yanez, 2003)



Figura 10. Determinación de pH de biopreparados

d. Determinación de humedad de biopreparados.

Se pesó en la balanza una funda de biopreparado y se secó en la estufa por 24 horas a 60 °C. Se pesó nuevamente y se calculó el porcentaje de humedad.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. EFECTO DE DOS BIOPREPARADOS, CODAPHOS ZINC, CODAPHOS CA, REMOCIONES A LOS 8 Y 15 DÍAS Y CUPROFIX EN EL CONTROL DE LA MONILIASIS EN CACAO NACIONAL X TRINITARIO

Cuadro 8. Análisis de Variancia (ANOVA) del peso total acumulado de almendra de cacao Nacional x Trinitario por efecto de los biopreparados Basubtil (*B. subtilis*), Cepacide (*P. cepacia*); Codaphos Zn, Codaphos Ca; remociones cada 8 y 15 días y Cuprofix en el período febrero – octubre 2011.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2169,84	146	14,86	2,98	<0,0001
Tratamientos	121,98	6	20,33	1,65	0,2167ns
Bloques	14,02	2	7,01	0,57	0,5807ns
Error (a)	147,89	12	12,32	2,47	0,0045**
Evaluaciones	1329,51	18	73,86	14,83	<0,0001**
Trat*Eva	556,44	108	5,15	1,03	0,4095ns
Error	1255,39	252	4,98		
Total	3425,23	398			
N=399	CV=64,67				

Cuadro 9. Separación de medias del peso total acumulado de almendra de cacao Nacional x Trinitario por efecto de los biopreparados Basubtil (*B. subtilis*), Cepacide (*P. cepacia*); Codaphos Zn, Codaphos Ca; remociones cada 8 y 15 días; y Cuprofix en el período febrero – octubre 2011.

Evaluaciones	Medias Originales	n	E.E.					
14	7,60	21	0,49	A				
2	6,66	21	0,49	A	B			
1	5,84	21	0,49	A	B	C		
18	5,33	21	0,49	A	B	C		
16	4,52	21	0,49		B	C	D	
13	4,19	21	0,49		B	C	D	
12	4,10	21	0,49			C	D	
15	3,58	21	0,49			C	D	E
19	3,44	21	0,49			C	D	E
3	2,82	21	0,49				D	E F
17	2,79	21	0,49				D	E F
11	2,49	21	0,49				D	E F
6	2,24	21	0,49				D	E F
5	2,16	21	0,49				D	E F
7	2,15	21	0,49				D	E F
4	2,12	21	0,49				D	E F
8	1,57	21	0,49					E F
10	1,40	21	0,49					E F
9	0,58	21	0,49					F
Medias con una letra común no son significativamente diferentes(p<= 0,05)								
Test: Tukey al 5%; DMS=2,49								
Error = 4,98; gl = 252								

Una vez realizado el análisis de varianza para el peso total acumulado de almendra de cacao nacional, nose determinaron diferencias significativas entre tratamientos, mientras que existió alta significancia ($P \leq 0,05$) entre las 19 evaluaciones (Cuadro 8).

El coeficiente de variación fue de 64,67% (Cuadro 8) y en evaluaciones 14, 2, 1 y 18 que corresponden a las fechas 11 de agosto, 10, 24 de febrero y 06 de octubre presentaron las medias significativamente ($P \leq 0,05$) más altas para el peso de

almendra (cuadro 9).

Estudios anteriores indican que el periodo de incubación del patógeno es de dos meses (revisado por Arévalo *et al.* 2004). Si consideramos las altas precipitaciones, temperaturas moderadas de diciembre 2010 y enero 2011 (405mm / 789 mm; 23,9°C / 24,9°C, respectivamente) (Figura 11) pudieron haber favorecido el desarrollo del patógeno y por tanto afectado en la cantidad de almendra sana.

Por el contrario las bajas precipitaciones de mayo y junio del 2011 no favorecieron el desarrollo del patógeno, por tanto la cantidad de almendra sana se incrementó en los meses de julio – septiembre de 2011. Esto nos demuestra que la precipitación y la temperatura juegan un papel importante en el periodo de incubación del patógeno, ya que a medida que decrece, la severidad de *M. royeri* se reduce aún cuando se experimentan aumentos leves de precipitación en los meses de junio, julio y septiembre 2011 (Figura 11) (Anexo 11).

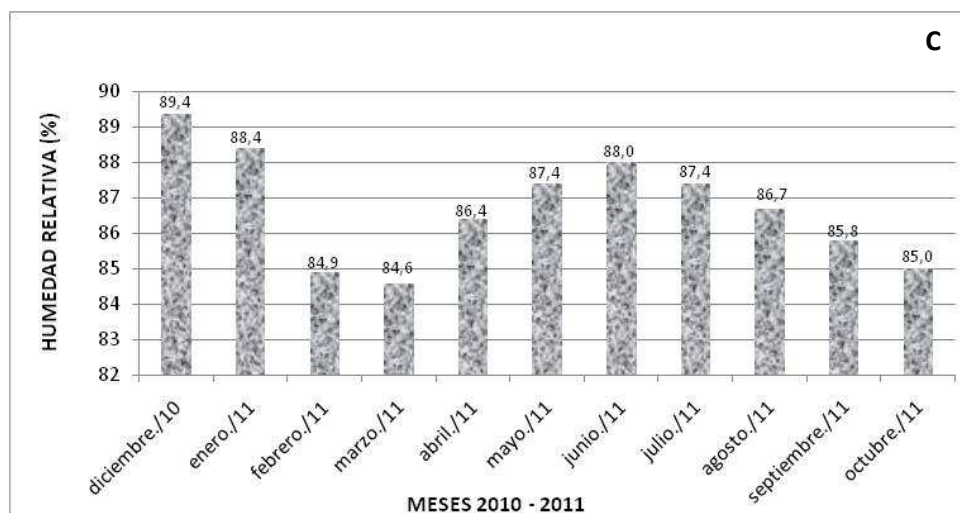
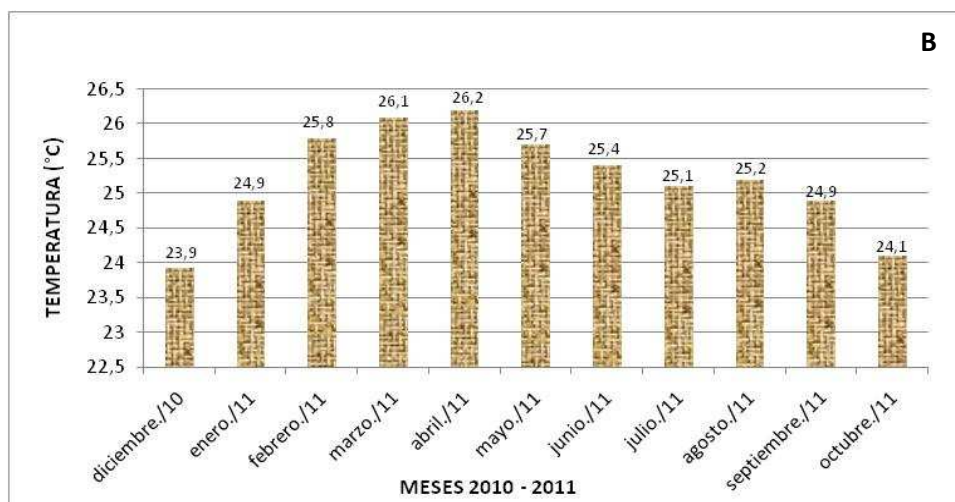
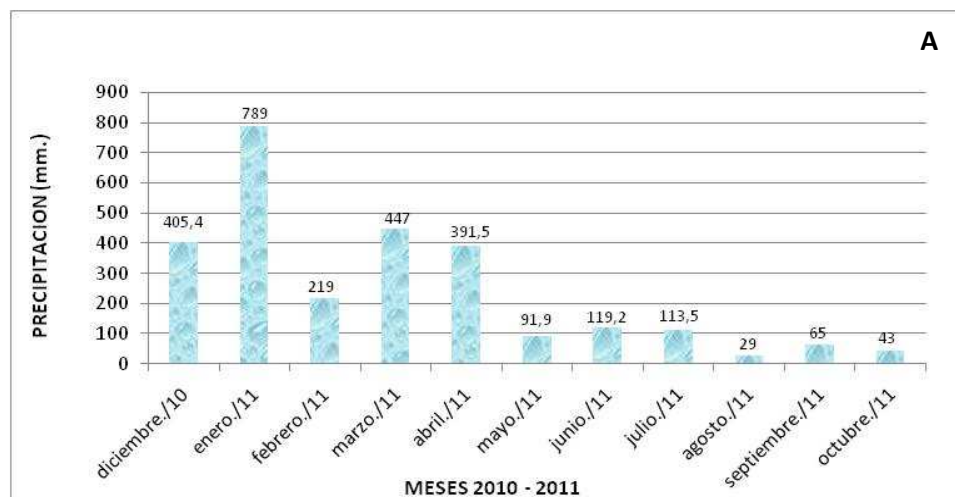


Figura 11. Promedios mensuales de precipitación (A), temperatura (B) y humedad relativa (C), durante la fase experimental diciembre 2010 – octubre 2011. Datos tomados de la Estación Meteorológica INIAP Santo Domingo, Provincia de los Tsáchilas.

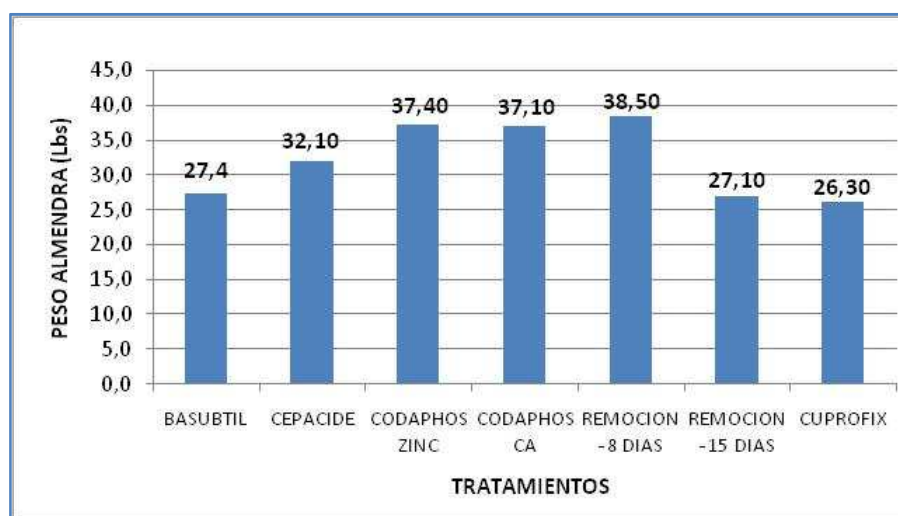


Figura 12. Producción total acumulada de almendra en el período Febrero – Octubre 2011

En la Figura 12 se puede observar el peso total acumulado de almendra por efecto de los siete tratamientos. Las diferencias entre los tratamientos fueron matemáticas, con la remoción de mazorcas cada 8 días se obtuvo un peso total acumulado de almendra de 38,5 lbs., frente al tratamiento Cuprofix cuya producción total de almendra fue de apenas 26,30 lbs.

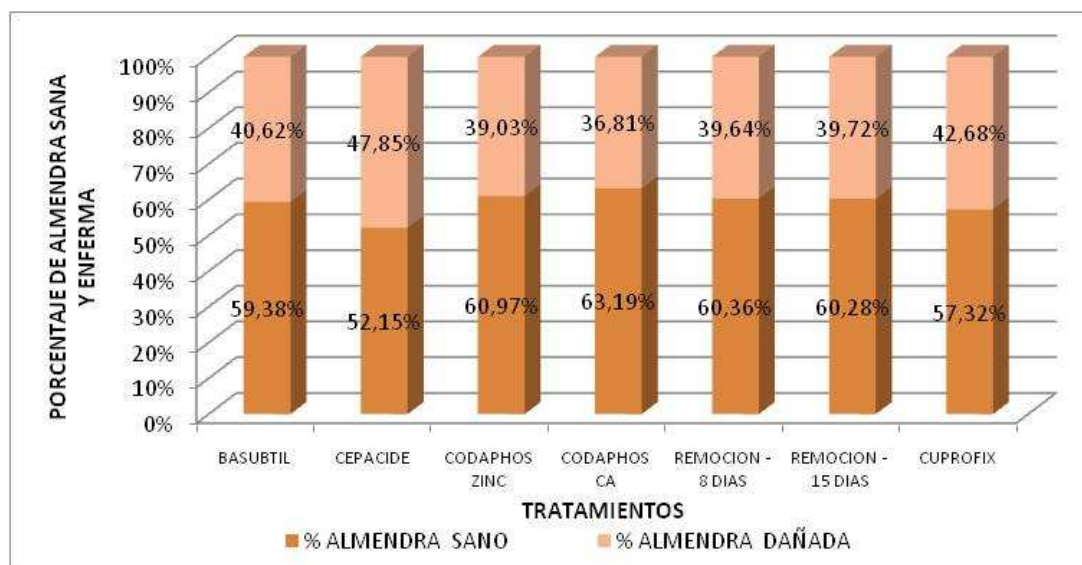


Figura 13. Efecto de siete tratamientos sobre el porcentaje de almendra sana y enferma, en el período Febrero – Octubre 2011

Al realizar un análisis comparativo (del periodo febrero – octubre 2011) entre el porcentaje de almendra sana versus porcentaje de almendra enferma encontramos que: Codaphos Ca registró el mayor porcentaje de protección de almendras con el 63% de almendra sana frente a 37% de almendras enfermas, seguido de Codaphos Zn el cual registró una protección del 61% frente a 39% de almendras dañadas, al remover mazorcas cada 8 días se logró un 60% de almendras sanas y 40% de almendras dañadas y removiendo cada 15 días se obtuvo 60% de almendras sanas y 40% de almendras dañadas, cuando se aplicaron los tratamientos Basubtil (*B. subtilis*) se registró el 59% de almendra sana frente a 41% de almendra dañada seguido de Cuprofix con 57% de almendra sana frente al 43% de almendra dañada, resultando el de menor protección para las almendras el tratamiento Cepacide (*P. cepacia*) con solo 52% de almendras sanas frente a 48% de almendra enferma (Figura 13).

Esta investigación guarda concordancia con estudios realizados por Falconí *et al.* (2005), donde el menor porcentaje de daño interno de almendras de cacao se obtuvo con aplicaciones del biopreparado Basubtil, seguido del producto químico que en su caso fue Bankit (azoxystrobin 250 g ia) y finalmente Cepacide.

Por su parte en investigaciones similares pero en localidades distintas Peralvo y Saavedra (2005), demostraron tener un control de moniliasis usando los microorganismos: *B. subtilis* y *P. cepacia* con reducciones del 82 y 81% de la enfermedad respectivamente. Lo que a su vez contrasta con Robles

(2008) quien validó el control de los mismos microorganismos sobre monilia con cantidad de almendras sanas de 70,86 % para *P. cepacia* y 69,56 % para *B. subtilis*.

Estudios similares al nuestro manifiestan que si bien no existen investigaciones que conlleven a discutir sobre el efecto de inductores de resistencia en cacao contra *M. royeri* con moléculas de fosfitos, Ramirez, *et al.* (2011) señala que el polisulfuro de calcio como alternativa de manejo contra *M. royeri* in vitro, inhibió la germinación y formación de conidios, a su vez que en campo al rociar mazorcas antes y después de inocularlas artificialmente con *M. royeri* obtuvo una incidencia de la enfermedad del 0.53% frente a 21% que se obtuvo con manejo cultural y 69,6% del testigo inoculado naturalmente, lo que representó una producción del 90,6% más que el testigo.

Respecto a las prácticas culturales de remoción, Krauss *et al.* (2003) manifiesta que en una evaluación participativa del manejo cultural y biológico de la moniliasis, la remoción semanal redujo la moniliasis significativamente mediante una reducción (92%) en la esporulación. Si bien dos regímenes de remoción (cada 8 y cada 15 días) aumentaron el rendimiento, solo el régimen de 8 días aumentó el porcentaje de mazorcas sanas.

Con respecto a los biopreparados, Robles (2008) manifiesta haber obtenido en su investigación que Cepacide y Basubtil generaron mayor cantidad de almendras sanas con respecto al fungicida Cuprofix basado en una producción acumulada de 70,86%, 69,56% y 67,85% respectivamente, mientras que su parte Falconí *et al.* (2007) manifiesta que la aplicación de Cepacide y Basubtil en campo es evidente

en comparación al fungicida Cuprofix; lo cual difiere con esta investigación únicamente en que Cepacide fue menor al fungicida Cuprofix con 52% de almendra sana frente a 57%. En términos generales; los biopreparados generan mayor protección en condiciones climáticas de verano las cuales parecen ser favorables para estos microorganismos en nuestra localidad.

4.2. PESO ACUMULADO DE ALMENDRA ENFERMA Y SU CORRELACIÓN CON FACTORES MEDIO AMBIENTALES.

Las evaluaciones del ensayo se llevaron a cabo durante el ciclo de producción febrero a octubre 2011. Esta época se caracterizó por una alta precipitación, calor moderado y alta humedad relativa. La precipitación mensual promedio fue de 168,79 mm; la temperatura mensual de 25,39 °C; y la humedad relativa con un promedio mensual de 86 % (Figura 11).

Cuadro 10. Análisis de Variancia (ANOVA) del peso acumulado de almendra enferma expresada en porcentaje de cacao Nacional x Trinitario por efecto de los biopreparados Basubtil (*B. subtilis*), Cepacide (*P. cepacia*); codaphos Zn, Codaphos Ca; remociones cada 8 y 15 días; y Cuprofix en el período febrero – octubre 2011.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	118282,38	146	810,15	2,71	<0,0001	
trat	2949,64	6	491,61	1,68	0,2091	(error (a))
blo	1930,09	2	965,04	3,3	0,0722	(error (a))
error (a)	3511,36	12	292,61	0,98	0,4704	
eva	73417,18	18	4078,73	13,63	<0,0001**	
trat*eva	36474,1	108	337,72	1,13	0,2204	
Error	75400,98	252	299,21			
Total	193683,36	398				
N = 399 CV = 44,16						
Datos transformados arco seno (x)						

Cuadro 11. Separación de medias d el peso acumulado de almendra de cacao Nacional x Trinitario por efecto de los biopreparados Basubtil (*B. subtilis*), Cepacide (*P. cepacia*); Codaphos Zn, Codaphos Ca; remociones cada 8 y 15 días y Cuprofix en el período febrero – octubre 2011.

Evaluaciones	Medias Originales (%)	n	E.E.						
10	71,42	21	3,77	A					
2	64,21	21	3,77	A	B				
8	61,49	21	3,77	A	B				
9	57,13	21	3,77	A	B				
3	56,04	21	3,77	A	B	C			
7	56,65	21	3,77	A	B	C			
11	49,39	21	3,77	A	B	C	D		
12	46,36	21	3,77		B	C	D		
13	45,49	21	3,77		B	C	D		
4	42,09	21	3,77		B	C	D		
1	40,86	21	3,77		B	C	D		
6	39,45	21	3,77		B	C	D		
16	36,27	21	3,77		B	C	D	E	
5	36,73	21	3,77		B	C	D	E	F
14	27,11	21	3,77			C	D	E	F
15	24,04	21	3,77				D	E	F G
17	14,16	21	3,77					E	F G
19	13,94	21	3,77						F G
18	5,78	21	3,77						G
Medias con una letra común no son significativamente diferentes(p<= 0,05)									
Test: Tukey al 5%; DMS=19,34									
Error = 299,21; gl = 252									

Realizando el análisis de varianza para el peso acumulado de almendra enferma expresada en porcentaje de cacao nacional, no se determinaron diferencias significativas entre tratamientos, mientras que existió alta significancia ($P \leq 0,05$) entre las 19 evaluaciones (Cuadro 10).

El coeficiente de variación fue de 44,16% (Cuadro 10) y en evaluaciones 10,2,8,9,3,7,11 que corresponden a las fechas 16 de junio, 24 de febrero, 19 de mayo, 02 de junio, 10 de marzo, 06 de mayo y 30 de junio presentaron las medias

significativamente ($P \leq 0,05$) más altas para el pesode almendra enferma (cuadro 11), coincidentalmente, dos meses atrás de obtener estos resultados, las condiciones climáticas de diciembre 2010, enero, marzo y abril 2011 (405mm / 789 mm / 447mm / 391,5mm; 23,9°C / 24,9°C / 26,1 °C / 26,2 °C respectivamente) pudieron haber favorecido al mayor daño de almendras (Figura 11) (Anexo 11).

Mientras que las evaluaciones 19 y 18 correspondientes a las fechas 20 y 06 de octubre 2011 muestran menor nivel porcentual de almendras enfermas, lo que se relaciona directamente con las condiciones climáticas dos meses atrás, de agosto y septiembre (29mm / 65mm; 25,2°C / 24,9°C respectivamente) pudieron haber influenciado sobre el menor daño de almendras obtenidas, esto sustenta muchos estudios que, derivan en que el aumento o disminución de la severidad de moniliasis está estrechamente relacionada a los factores medio ambientales (Cuadro 11) (Figura 11).

En base a estas condiciones conductivas, los tratamientos que mayor peso de almendra enferma (en el periodo invernal de febrero – junio) fueron: Cuprofix y Cepacide (*P. cepacia*) con 64% y 63% respectivamente, Cepacide (*P. cepacia*) se mantiene en los meses de marzo y abril con 63% y 50% respectivamente, la remoción de mazorcas infectadas cada 15 días con 73% en mayo, y Cepacide con 83% en junio. Mientras que en el periodo de verano de julio – octubre todos los tratamientos muestran un descenso de almendras enfermas sin excepción que coincide con la disminución de la precipitación y la temperatura ambiental. (Figura 14)

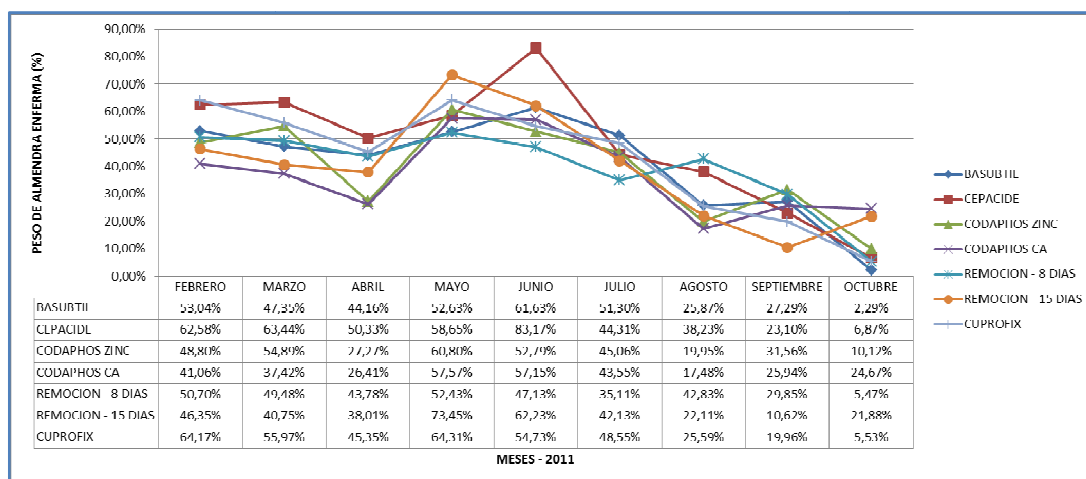


Figura 14. Porcentaje mensual de almendra enferma en el período Febrero – Octubre 2011

Estos resultados concuerdan con los estudios de Ram *et al.* (2004), quienes manifiestan que es necesaria la presencia de una película de agua en el ambiente saturado por seis horas como mínimo para que los conidios de *M. royeri* germinen e infecten los frutos, en tanto que Suarez y Delgado (1993), indican que existe una relación directamente proporcional entre la lluvia caída tres o cuatro meses antes de la cosecha y la incidencia de *M. royeri*, por tanto una humedad relativa del 80% y una temperatura entre los 25 - 28°C favorecen la enfermedad. Por el contrario Robles (2008) indica que bajo las condiciones climáticas prevaletientes en la Hda. San Antonio, Km 40 vía Quevedo, notó que mientras la precipitación y la humedad relativa decrecían y la temperatura aumentaba se creaban condiciones favorables para el desarrollo del hongo cuya incidencia tuvo mayor incremento en todos los tratamientos.

En zonas de alta precipitación, mayores a 2500 mm, con humedad relativa por encima del 90%, *M. royeri* puede alcanzar incidencia de hasta el 90%. Existen probabilidades de que lluvias torrenciales puedan generar un efecto negativo sobre la

enfermedad (Castro, 1989). Galindo (1985) manifiesta que las esporas requieren de una película de agua sobre el fruto para su germinación y desarrollo del tubo germinativo. Mientras que en torno a la temperatura, este es el factor de mayor influencia en la tasa de crecimiento de los hongos (Moore-Landecker, 1996). Para *M. rorei* el rango ideal in vitro para el crecimiento y la esporulación de colonias en medio de cultivo V8 es de 24 – 28°C (Herrera, 1988).

4.3. MOMENTO ADECUADO DE APLICACIÓN DE CADA MEDIDA DE CONTROL DE CONTROL

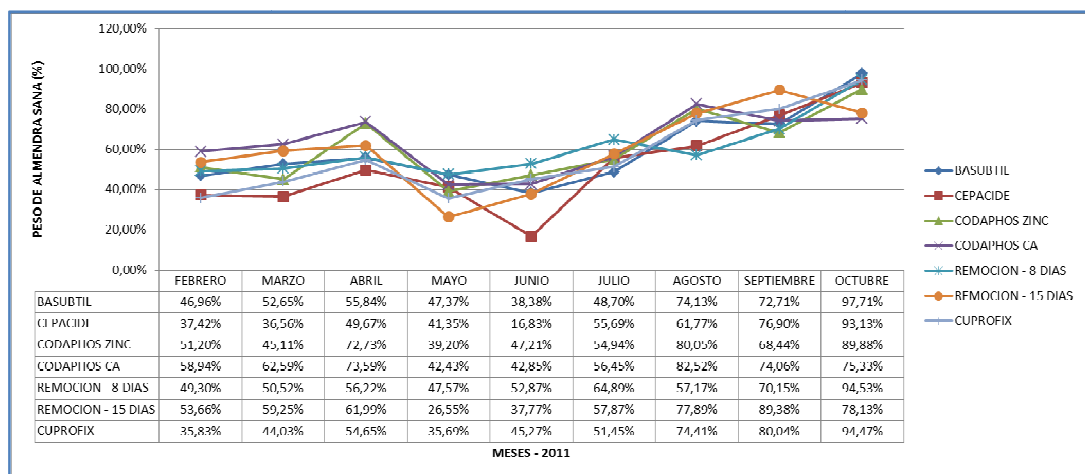


Figura 15. Porcentaje mensual de almendra sana en el período Febrero – Octubre 2011

Para definir el momento de aplicación adecuado de cada medida de control, es necesario analizar la Figura 15, donde se muestran los tratamientos de mayor cantidad de almendra sana. El tratamiento Codaphos Ca (64%), Codaphos Zn con el (61%) y el tratamiento remoción de mazorcas infectadas cada 8 días (60%) muestran rangos de protección por sobre el 50% de almendra sana por alrededor de 6 meses del estudio. Esto hace presumir que una aplicación integrada de estos tratamientos,

intercalando aplicaciones de Codaphos Ca y Codaphos Zn cada 21 días y removiendo frutos enfermos cada 8 días es una práctica eficiente.

La aplicación de Basubtil (*B. subtilis*) y Cepacide (*P. cepacia*) se la puede realizar a partir del mes de mayo cada 21 días hasta el mes de Diciembre donde generan mayor nivel de protección (Figura 15).

En todo caso la investigación sugiere adoptar la medida cultural de remoción debido que permite bajar presión de inóculo. Esta medida según experiencia propia a más de ser económica, resulta ser indispensable y fácil de adoptar ya que no presenta limitaciones técnicas.

Ampuero (1967) y Castaño (1952) indican que las mazorcas monificadas y no removidas dentro de la plantación resultan ser la principal fuente de inóculo del patógeno pudiendo generar una cantidad de esporas alrededor de 44 millones por cm^2 . Esto significa que una mazorca adulta infectada puede generar 700 millones de esporas (Campuzano, 1981). Suarez y Delgado (1993) indican que investigaciones realizadas en Ecuador demuestran que una mazorca puede generar hasta $5,72 \times 10^7$ conidias por cm^2 y que una mazorca puede diseminar esporas fácilmente hasta una distancia mínima de 375 m.

4.4. DETERMINACIÓN DEL AREA BAJO LA CURVA DEL PROGRESO DE LA ENFERMEDAD (ABCPE) DE LA MONILIASIS

Los datos relacionados al ABCPE demuestran que el tratamiento Cepacide (*P. cepacia*) presenta un área menor con relación a la incidencia de la monilia, lo que denota que este tratamiento es el que mejor controló el patógeno en el tiempo con 1211,0 unidades, seguido del tratamiento Cuprofix con 1214,96; remoción cada 8 días con 1251,67 unidades; Codaphos Zn con 1258,69 unidades; Basubtil (*B. subtilis*) con 1266,0 unidades; Codaphos Ca con 1276,87 unidades y finalmente el que menos control mostró a través del tiempo es el tratamiento de Remoción cada 15 días con 1349,29 unidades(Cuadro 12 y Figura 16).

Cuadro 12. Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) de la moniliasispor efecto de los siete diferentes tratamientos.

TRATAMIENTOS	ABCPE
CEPACIDE (<i>Pseudomonas cepacia</i>)	1211,00
CUPROFIX	1214,93
REMOCION - 8 DIAS	1251,67
CODAPHOS ZINC	1258,69
BASUBTIL (<i>Bacillus subtilis</i>)	1266,00
CODAPHOS CA	1276,87
REMOCION - 15 DIAS	1349,29

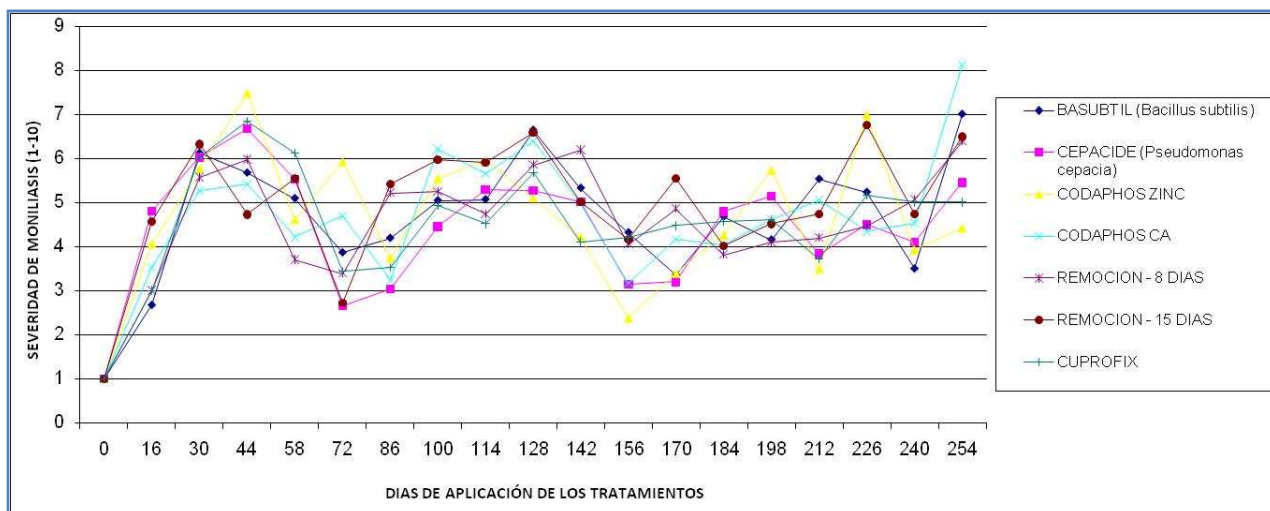


Figura 16. Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE) de la moniliasis por efecto de los biopreparados Basubtil (*B. subtilis*), Cepacide (*P. cepacia*); Codaphos Zn, Codaphos Ca; remociones cada 8 y 15 días y Cuprofix en el período de febrero – octubre 2011

4.5. ANÁLISIS ECONÓMICO DE LOS TRATAMIENTOS.

En función a la metodología del análisis del presupuesto parcial de Perrín *et al.*, (1976) se calculó el beneficio bruto que corresponde al rendimiento de almendra por el precio en finca (\$ 0,45 / kg). Además, se consideraron los costos y la diferencia como beneficio neto, con resultados positivos para todos los tratamientos en estudio.

El tratamiento que mayor beneficio económico generó fue remoción de mazorcas cada 8 días, considerando los costos variables en la finca Colinas Garyth.

Así, también es preciso indicar que si se pretende determinar en base al total de costos variables, el tratamiento más económico para controlar la moniliasis en el

campo se puede manifestar que es el tratamiento de remoción cada 15 días (\$24,13 ha⁻¹ año).

Al ordenar los beneficios netos de cada tratamiento en forma decreciente de sus costos variables se procedió a realizar el análisis de dominancia donde el tratamiento dominado es aquel que a igual o menor beneficio neto, presenta un mayor costo variable; así el tratamiento que se constituyó en la alternativa económica es el Basubtil (\$ 257,88 ha⁻¹ beneficio neto y \$ 345,94ha⁻¹ costo variable) (Cuadro 13). Los costos varios corresponden a los de la finca Colinas Garyth de acuerdo a su topografía regular (10% de inclinación promedio) y a la edad de sus cultivos (5 años).

Cuadro 13. Cálculo del presupuesto parcial. Proyección de rendimientos y reducción de costos de un experimento usando cacao Nacional x Triterario por efecto de los tratamientos biológicos Basubtil (*B. Subtilis*) y Cepacide (*P. Cepacea*); CODAPHOS Ca y CODAPHOS Zn; Remoción cada 8 y 15 días y Cuprofix en el periodo de Febrero – Octubre 2011.

CONCEPTO	BASUBTIL	CEPACIDE	CODAPHOS ZINC	CODAPHOS CA	REMOCION - 8 DIAS	REMOCION - 15 DIAS	CUPROFIX
Rendimiento (kg/ha)	\$ 670.91	\$ 822.27	\$ 1,002.27	\$ 945.00	\$ 1026.82	\$ 691.36	\$ 658.64
Rendimiento ajustado (-10%)	\$ 67.09	\$ 82.23	\$ 100.23	\$ 94.50	\$ 102.68	\$ 69.14	\$ 65.86
Beneficio bruto	\$ 603.82	\$ 740.05	\$ 902.05	\$ 850.50	\$ 924.14	\$ 622.23	\$ 592.77
COSTOS VARIABLES							
Empleo de la remoción					\$ 48.26	\$ 24.13	
Costo biopreparados	\$ 129.94	\$ 129.94	\$ 92.81	\$ 92.81			
Costo Fungicida							\$ 118.80
Costo mano obra para aplicación	\$ 216.00	\$ 216.00	\$ 216.00	\$ 216.00			\$ 216.00
TOTAL COSTOS VARIABLES	\$ 345.94	\$ 345.94	\$ 308.81	\$ 308.81	\$ 48.26	\$ 24.13	\$ 334.80
Beneficio Neto Parcial	\$ 257.88	\$ 394.11	\$ 593.23	\$ 541.69	\$ 875.87	\$ 598.10	\$ 257.97

Según Soberanis *et al.* (1999), la remoción semanal de mazorcas enfermas es la práctica más eficiente y económica; estudios en Perú demuestran una reducción del 36% en la incidencia de la enfermedad obteniéndose un incremento en el rendimiento del 31% al compararla con la remoción quincenal. La remoción cada 8 días puede ser complementada con otros componentes como lo manifiesta Saquicela, (2010), quien indica que el componente remoción en conjunto con la poda arrojó una relación costo beneficio de 1,3 con \$227,41 netos por ha. como manejo integrado de la moniliasis en cacao nacional. De acuerdo con estudios realizados por Rodríguez, (2002), la sustitución en el uso de insumos químicos en el cacao orgánico en nuestro país, está asociada a efectos positivos, incluyendo menores riesgos de contaminación de suelos, agua y aire.

XI. CONCLUSIONES

1. Las medidas de bajo impacto ambiental para mitigar *M. royeri* no presentaron diferencias significativas entre ellas, pero si se observó diferencias entre evaluaciones. Esto sugiere que las evaluaciones estuvieron influenciadas por el clima y poday entre tratamientos se pudo apreciar diferencias matemáticas entre ellos. El tratamiento remoción de mazorcas infectadas cada 8 días resultó ser el mejor al momento de analizar el peso acumulado de almendra (38,5 lbs.), por el contrario el de menor peso acumulado fue Cuprofix (26,3 lbs.). El tratamiento remoción de mazorcas infectadas cada 8 días fue tercero en proteger las almendras con 60,36% de almendra sana frente al tratamiento Codaphos Ca con 63,19% de almendra sana, este comportamiento se deba quizá a que la remoción es una práctica de tipo física mientras que los fosfitos Ca tienen una connotación química que interviene en el metabolismo de la planta.
2. Todos los tratamientos sin excepción presentaron una relación con el factor climático, cuando las condiciones de precipitación y temperatura bajaban los tratamientos fueron más eficientes en su labor, lo que demuestra que la actividad epidemiológica de *M. royeri* merma en estas condiciones, entonces es más factible ejercer control usando los tratamientos en estudio.
3. Entre los tratamientos en estudio la remoción de mazorcas infectadas cada 8 días resultó ser el más adecuado como una medida de manejo de *M. royeri*, ya que para la finca Colinas Garyth es de fácil aplicación y control en el campo.

Esto en conjunto con otras actividades encaminadas a mitigar al patógeno como los tratamientos Codaphos Ca y Codaphos Zn podrían constituir una medida de control en conjunto con la remoción semanal de mazorcas infectadas para la época de invierno. Para época de verano se puede integrar los biopreparados Basubtil y Cepacide.

4. El tratamiento remoción de mazorcas infectadas cada 8 días resulta ser el adecuado para una huerta de condiciones similares a la finca Colinas Garyth, ya que presentó la mejor relación costo – beneficio (\$875,87 ha⁻¹.)

XII. RECOMENDACIONES

1. Para bajar la incidencia de la moniliasis se debe realizar un control integrado de la enfermedad; empleando una remoción de mazorcas infectadas cada 8 días conjuntamente con la aplicación de los productos Codaphos Ca y Codaphos Zn en los meses de invierno, como también adicionar el uso de Basubtil y Cepacide en los meses de verano; debido a que los tratamientos mostraron mayor eficacia en este periodo del año para las condiciones existentes en Santo Domingo de los Tsáchilas.
2. Seguir evaluando los biopreparados y los productos CodaphosCa y Codaphos Zn en diferentes condiciones ambientales así como en otras localidades con diversos cultivares y en asociación con técnicas de manejo integrado.
3. Realizar una evaluación de los biopreparados usados en la Finca Colinas Garyth, pero con bacterias nativas de la zona para comparar la eficiencia de las mismas versus las provenientes del banco de microorganismos del Laboratorio y Control Biológico de la Carrera de Ciencias Agropecuarias IASA I - ESPE.
4. Para mantener niveles bajos aceptables de monilia en un cultivo realizar por lo menos la remoción de frutos enfermos cada 8 días, ya que representa una actividad relativamente de bajo costo según los costos de la finca Colinas Garyth y fácil de implementar para el productor ecuatoriano.

5. Realizarla aplicación de los productos dos meses antes de la maximización de la productividad según los datos obtenidos, por tanto para la época de invierno se debería aplicar en el mes de diciembre y para verano en los meses de mayo y junio.

VII. RESUMEN

La moniliasis *Moniliophthoralarories* la enfermedad que causa las mayores pérdidas en el cacao, por tanto pérdidas monetarias que han causado el abandono del cultivo emblema de los ecuatorianos. En el presente estudio se evaluaron varias medidas de bajo impacto ambiental encaminadas a mitigar la moniliasis. Medidas biológicas mediante el uso de los biopesticidas Basubtil (*Bacillus subtilis*) y Cepacide (*Pseudomonas cepacea*); culturales aplicando un régimen de remoción semanal o quincenal de mazorcas infectadas; inducción de resistencia con la aplicación de fosfitos de calcio y zinc; comparadas con el tradicional control químico del fungicida Cuprofix. Los tratamientos se aplicaron en un cultivo de cacao tipo Nacional cuyas plantas provienen de clones del complejo Estación Experimental Tropical (EET) del INIAP.

El estudio se realizó bajo las condiciones climáticas de Santo Domingo de los Tsáchilas, cantón Santo Domingo, parroquia Valle Hermoso en la finca Colinas Garyth, en una plantación de 2,5 años de edad en campo definitivo.

Basubtil y Cepacide se aplicaron en concentraciones de $1,0 \times 10^{10}$ ufc g⁻¹ cada una; la remoción de frutos enfermos se realizó cada semana o cada quince días; los fosfitos de calcio y de zinc se aplicaron en dosis de 2,5 L/ha y 2,0 L/ha, respectivamente, y Cuprofix 252 cc/ha.

Los siete tratamientos se dispusieron en un diseño combinado, con tres

repeticiones. La parcela neta constó de 15 árboles por unidad experimental. Los biopesticidas, fosfitos y el químico sintético se aplicaron cada 21 días. El efecto de los tratamientos se determinó en base la producción acumulada de almendra, porcentaje de daño interno, su relación con factores medio ambientales y el Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE).

El análisis de varianza de la variable almendra acumulada no mostró diferencias significativas entre tratamientos. Mediante un análisis matemático se determinó que la remoción semanal de mazorcas indujo una producción acumulada de almendra de 38,5 libras, comparado con Cuprofix con tan solo 26,3 lbs. Mediante la aplicación de fosfito de Ca se logró proteger en un 63% de protección comprado con la remoción cada 8 días que protegió el 60% del total de almendras acumulada.

Los datos del Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE) indican la baja capacidad de los tratamientos para controlar la moniliasis durante periodos de alta temperatura, precipitación y humedad relativa. Las medidas alternativas de este estudio resultan efectivas para controlar a *M. royeri* solo bajo condiciones no conductivas para el patógeno.

Con la remoción semanal de mazorcas enfermas se obtuvo el mayor beneficio neto de \$875,87 comparado con Cuprofix con el que se obtuvo solo \$257,97, considerando los costos variables de la Finca Colinas Garyth.

En base a los resultados mostrados en este estudio en la Finca Colinas Garyth, se recomienda que para bajar la incidencia de la moniliasis se debe realizar un

control integrado de la enfermedad; empleando una remoción cada 8 días o a su vez aplicar el producto Codaphos Zn en el mes de diciembre para el invierno. Para el verano, que corresponde con los meses de mayo – junio se podría aplicar los biopreparados Basubtil y Cepacide; debido a que en ese intervalo de tiempo se determinó disminución de la incidencia de la enfermedad.

VIII. SUMMARY

Monilia pod rot *Moniliophthoralaroreriis* the disease causing the greatest losses in cocoa, then monetary losses that have caused the abandonment of farming emblem of Ecuadorians. In the present study, we evaluated several measures of low environmental impact to mitigate moniliasis. Biological measures by using Basubtilbiopesticides (*Bacillus subtilis*) and Cepacide (*Pseudomonas cepacea*); cultural practices removing infected pods weekly or every two weeks; induction of resistance to the application of phosphites of calcium and zinc, compared with the traditional chemical control of fungicide Cuprofix. Treatments were applied on a national type cocoa plants which come from complex mix of clones from the Tropical Experiment Station (EET) INIAP.

The study was conducted under the climatic conditions of Santo Domingo de los Tsáchilas, Santo Domingo Region, Valle Hermoso locality, at the Garyth farm, in 2.5 years old plantation in production.

Cepacide and Basubtil were applied at concentrations of 1.0×10^{10} cfu g⁻¹ each, removal of diseased pods was performed every week or every two weeks, phosphite either of calcium or zinc were applied at doses of 2.5 L/ ha and 2.0 L / ha, respectively, and Cuprofix 252 cc / ha.

The seven treatments were arranged in a combined design with three replications. The net plot consisted of 15 trees per plot. Biopesticides, phosphites and

synthetic chemical were applied every 21 days. The effect of treatment was determined based on the accumulated production of almonds, percentage of internal damage, its relationship to environmental factors and the Area UnderDisease Progress Curve (AUDPC).

Analysis of variance of the accumulated almond showed no significant difference among treatments. Mathematical analysis determined that weekly removal of infected pods induced analmonds cumulative production of 38.5 pounds, compared with only 26.3 pounds of Cuprofix. Applying phosphite of Cawas achieved a 63% protection in comparison with 60% of total accumulated almonds by the removal of infected pods every 8 days.

Data of AUDPC indicates the low ability of treatments to control monilia pod rot during periods of high temperature, precipitation and relative humidity. The alternative measures of this study are effective in controlling *M. royeri* only under no conducive conditions for the pathogen.

Weekly removal of diseased pods gave the highest net benefit of \$ 875,87 compared with Cuprofix with only \$ 257.97, considering the variable costs of Colinas Garyth Farm.

Based on the results shown in this study at the Colinas Garyth Farm we recommend that to reduce the incidence of monilia pod rot should be apply an integrated control of the disease by removing infected pods every 8 days or applying CODAPHOS Zn in December during winter. For summer, which corresponds to the

months of May-June could be applied the biopesticides Basubtil or Cepacide because in that time interval it was determined decrease in the incidence of the disease.

IX. BIBLIOGRAFÍA.

- Anecacao, 2006. Exportaciones mensuales de cacao (en línea). Ecuador. Consultado 31 de Octubre del 2007. Disponible en: <http://www.anecacao.com/Español/español.htm>
- Ampuero, E. (1967). *Monilia* pot rot of cocoa. Coocoa Grower's Bulletin 9: 15 – 18.
- Arévalo, GE. 1992. Estudio de la moniliasis del cacao causada por *Moniliophthora roreri* (Cif. & Par.) Evans *et. al.* en la Selva Norte del Perú. Tesis Msc. Escuela de Graduados. UNA La Molina. Lima, PE. 93 p.
- Arévalo, E; Zúñiga, L; Adriazola, J. 2004. Cacao: Manejo integrado del cultivo y transferencia de tecnología en la Amazonía peruana. ICT. Chiclayo, Perú. 184 p.
- Ball, A., 2002; Biopesticide Fac. sheet. *Bacillus subtilis*. EPA – USA (en línea) consultado el 17 de octubre del 2007; Disponible en <http://www.epa.gov/pesticides/factsheet.html>
- Bejarano, G. 1961. Métodos de inoculación artificial y factores favorables para la infección de *Monilia roreri* Cif. & Par. Tesis Ing. Agr. Universidad Central del Ecuador. Quito, EC. pp 54 - 58.
- Bochow, H., 1992; Phytosanitary effects of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. En: international Symposium on Crop Protection; Humbolt Univ. Berlín, Germany, pp 387 – 393.
- Bravo, N; Victoria, J. 1980. Control biológico “*in vitro*” de la moniliasis (*Moniliophthora roreri* Evans sin. *Monilia roreri* Cif & Par.) del cacao (*Theobroma cacao* L.) In: IV Congreso nacional de ASCOLFI. Resúmenes. Medellín, CO. pp 24 – 25.

- Bruin, GC. & Edgington LV. 1983. The chemical control of plant diseases caused by zoosporic fungi. *Zoosporic Plant Pathogens, a Modern Perspectives*, S. T. Buczaki. Ed. Academic Press. London. pp 193 - 232.
- Buchanan, RE. and Gibbons, NE. 1974. Endospore forming rods and cocci. Part 15. Eight Editions. The Williams and Wilkins Company. Baltimore. pp 529 - 549.
- Bugaret, Y; Bulit, J. & Lafon R. 1980. Amelioration du traitement de l'œxcoriose de la vigne (*Plasmopsis viticola* Sacc.) utilisation en post debourrement de la vigene de l'association de phoséthyl-Al et folpet. *Phytriatie. Phytopharmacie*. pp 45 - 56.
- Campbell, CL. 1989. Introduction to plant disease epidemiology. John Wiley and sons. New York, US. 532 p.
- Campollo, H. 1984. La Moniliasis del cacao y sus efectos económicos para Guatemala (moniliasis o podredumbre acuosa del cacao). *Revista cafetalera*. Edit ANECAFE. pp 26 - 28.
- Campuzano, H. (1981). Influencia de la temperatura y la humedad en la germinación de esporas de *Monilia roveri*. In: 8th International Cocoa Research Conference. Colombia. 1981. Actas Cocoa Producers' Alliance. Lagos, Nigeria. 493-497 p.
- Castaño, B. 1952. Fisiología del hongo causante de la moniliasis. Desarrollo del hongo en la mazorca. 3ra. Edición. La Habana, CU. 150 p.
- Castro, J.; Anzules, A.; Zambrano, C. 2000. Validación de tecnología generadas por el INIAP, en cultivos de ciclo corto y perennes. Proyecto del núcleo de apoyo técnico y capacitación. Estación Experimental Tropical Pichilingue. Quevedo, Ecuador.

- Castro, O. (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. (p.65).
- Cevallos, JC. 2003. Evaluación de materiales de soporte para la formulación de la bacteria antagonista *Pseudomonas cepacia* para el control de moniliasis *Moniliophthora roreri* en cacao *Theobroma cacao*. Tesis Ing. Agr. Escuela Politécnica del Ejército. Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA. Sangolquí, EC.
- Dellaat, A., 1993; Microbiología; segunda edición; Editorial Interamericana; México D.F., México; 395 p.
- Durango, WD. 2001. Evaluación de fungicidas y biocontroladores en el manejo de enfermedades de la mazorca de cacao. Tesis Ing. Agr. Universidad de Guayaquil. Guayaquil, EC. 98 p.
- Enriquez, GA. 1985. Curso sobre el cultivo del cacao. CATIE. Serie Materiales de Enseñanza N° 22. Turrialba, CR. 239 p.
- Enriquez, GA. 2004. Cacao orgánico, Guía para productores ecuatorianos. Manual Nro. 54. INIAP. Quito, EC. 360 p.
- Evans, HC; Holmes, KA; Reid, AP; Benito, J. 1973. Classical Biological Control. In: Kraus, U. and Hebbar, H. eds. Research methodology to in biocontrol of plant diseases with special reference to fungal diseases of cocoa. Workshop Manual. CATIE. Turrialba, CR. pp. 29-37.
- Evans, HC. 1981. Pod rot of cacao caused by *Moniliophthora roreri* (Monilia) *roreri*. In: Phytopathological papers N° 24. CAB. Kew. Surrey, England. Pgs 1 – 43.

- Evans, HC; Holmes, KA; Reid, AP. 2003. Phylogeny of the frosty pod rot pathogen of cocoa. *Plant Pathology*. pp 476 - 485.
- Falconí, C. 1997. El control biológico de plagas y enfermedades. 1 ed. FIFAC. DE. pp 5 - 6, 18 - 20, 54 - 57.
- Falconí, C. 2003. Estrategias biológicas para el control de la moniliasis del cacao. *In*: INIAP, GTZ, PROCIANDINO. Agricultura orgánica. Quevedo, EC. 1 disco compacto, 8mm.
- Falconí, CE; Oleas, AR; Yáñez, VR; Páez, T; Rodríguez, R; Cevallos, J; Garcia, M; Muñoz, A; Taco, M; Maisincho, J. 2003. Boletín Técnico del Proyecto “Estrategias biológicas para el control de la Moniliasis del cacao”. Convenio ESPE – PROMSA, MAG, ORECAO, IQ – CV – 025. EdiEspe. Sangolquí, EC. 54 p.
- Falconí, CE; Oleas, AR; Yáñez, VR. 2004. Biological control of monilia pod rot (*Moniliophthora roreri*) on “high flavour” cocoa’s field using biopesticidas based on *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas cepacea*. *Phytopathology*. pp S28 – S29.
- Falconí, CE; Yáñez, V. 2007. Validación de biopesticidas para el control de la Moniliasis y manejo sustentable del cacao fino de aroma en el Ecuador. ESPE / Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología. Sangolquí, EC. p.
- Galindo, J. (1985). Enfermedades del cacao de importancia económica en América. *In*: XXV Reunión Anual de la American Phytopathological Society 1985. Guanajuato, México. (p. 26)

- García, MF. 2002. Control biológico de *Moniliophthora roreri* en campo usando microorganismos epifitos aislados de mazorcas de cacao *Theobroma cacao*. Tesis Ing. Agr. Escuela Politécnica del Ejército. Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA. Sangolquí, EC. pp 6, 29, 31.
- Guest, D. & Grant B. 1991. The Complex action of phosphonates as antifungal agents. *Biological Review*. pp 159 - 187.
- Hernández, A., (1998); Selección de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal. Informe Final Proyecto 0300098. PNCT Biotecnología Agrícola.
- 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. (p. 159)
- INIAP. 2002. Informe técnico anual 2002. Núcleo de apoyo técnico y capacitación. Estación Experimental Tropical Pichilingue., Quevedo, Ecuador. 97 p.
- INEC, SICA, MAG Ecuador. 2002. III Censo Nacional Agropecuario. Resultados Nacionales. INEC. Proyecto SICA. Quito, EC. 257 p.
- Jimenez, J; Ramirez, C; Enriquez, G. 1987. Evaluación del combate biológico y químico de la Moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao en Costa Rica. *In: 10^a Conferencia internacional de investigación en cacao, Actas*. Santo Domingo, DO. pp 1 - 7.
- Johnson, DA; Inglis, DA. & Miller JS. 2004. Control of potato tuber rots caused by oomycetes with foliar applications of phosphorous acid. *Plant Disease*. pp 1153 - 1159.
- Krauss, U; Soberanis, W. 2001. Biocontrol of cocoa pod diseases with mycoparasite mixtures. *Biological control* 22. Huanuco, PE. pp 149 - 158.

- Krauss, U., Hoopen, M., Hidalgo, E., Martínez, A., Arroyo, C., García, J., Portuguez, A., Sánchez, V. (2003). Manejo integrado de moniliasis (*Moniliophthora roreri*) en el cacao (*Theobroma cacao*) en Talamanca, Costa Rica. (p.7). Agroforestería en las Américas, Vol. 10. N° 37 – 38.
- Landeo, JA. 1998. Data Processing and Interpretation of Late Blight resistance parameters. Appendix 3 – SIFT Field Book. Standart International Potato Center (CIP), Phytosanitary Statement. 4 p.
- Leach, AW; Mumford, JD; Krauss,U. 2002. Modelling *Moniliophthora roreri* in Costa Rica.Crop Protection. pp 317 - 326.
- MAG. 2006. Ecuador reconocido mundialmente por cacao fino de aroma. (en línea). EC. Consultado 31 oct. 2009. Disponible en http://www.mag.gov.ec/docs/boletines/boletin_43_2005.pdf
- Melgarejo, L. 1989. Control biológico de bacterias. Aspectos generales de control biológicos en patógenos. (En línea). Consultado el 16 de octubre2007. Disponible en: <http://www.terraia.com/revista8/pagina34.htm> - 11k
- Mengdehl, H. 1933. Studies zum phodphrostoffwechsel in der hoheren pflanze. I. Die bestimmung van pyround metaphospat. Sowie van phospphit und hypophosphit in pflanzenmaterial.Planta. pp 316 – 320.
- Meyer, I. N.; HohnadeL, D. and Hallé, F. (1989); Cepabactín from *Pseudomonas cepacia*, a new type of siderophore.I. Gen. Microbiol. Vol.135; 479- 1487.
- Meyer, J. M.; Tran, V.; Stinzi, A.; Berge, O. and Winkelman, G. (1995); Ornibactin production and transport properties in strains of *Burkholderia vietnamienses* and *Burkholderia cepacia* (formely *Pseudomonas cepacia*) .Biometales; Vol.8; 309-307.

- Mooer-Landercker, ME. 1996. Fundamental of fungi. Nueva Jersey, EUA. Prentice Hall. (p. 367)
- Muñoz, AL. 2002. Eficiencia de *Bacillus sp* y *Pseudomonas sp* como antagonistas de *Moniliophthora roreri* y su tolerancia a plaguicidas y productos afines “*in vitro*”. Tesis Ing. Agr. Escuela Politécnica del Ejército. Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA. Sangolquí, EC. pp 29, 34.
- Nysaes, 2006; Material fac. sheet *Bacillus subtilis* (en línea); Consultado el 17 de octubre del 2007. Disponible en <http://www.nysaes.cornell.edu/ppresourceguide/pdf/mfs01.pdf>
- Pallerony, N. J. (1984); Family 1. Pseudomonadacea En Bergey's manual of systematic bacteriology. N. R. Kried (ed). The William and Wilkins.Co, Baltimore. p. 140-205.
- Peralvo, D; Saavedra, L. 2005. Validación de biopreparados en base a bacterias epífitas para el control de la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) en el cultivo de cacao fino de aroma. Tesis Ing. Agr. Escuela Politécnica del Ejército. Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA. Santo Domingo de los Colorados, EC.
- Perrín, R.K.; Winkelmann, D.; Moscardi, E.; Anderson. J. 1976. Formulación de recomendaciones a partir de datos agronómicos: Un manual metodológico de evaluación económica CIMMYT, México DF, México. 54p
- Purdy, L. 1999. Fungal disease of cacao. *In*: Research Methodology in biocontrol of plant disease with special reference to fungal diseases of cocoa. Workshop manual. CATIE. Turrialba, CR. pp 7 - 18.
- Ram, A., Valle, R., Arévalo, E. (2004). Monília do cacauerio, Fundacao Cargil, Sau Paulo, Brasil, (p. 26)

- Ramirez, E. 2007. Historia e importancia de la cadena del cacao en el Ecuador (en línea). Consultado 4 dic. 2009. Disponible en: <http://www.sica.gov.ec/cadenas/cacao/docs/importanciacadencacao05.htm>
- Ramirez, S., López, O., Guzmán, T., Mungía, S., Moreno, J. (2011). El polisulfuro de calcio en el manejo de la moniliasis *Moniliophthora roreri* (Cif & Par). *Evans et al.* del cacao *Theobroma cacao* L. (p 18). Tecnología en Marcha, Vol. 24. N°4, Octubre – Diciembre
- Ramos, G; Ramos, P; Azocar, A. sf. Manual del Productor de Cacao. Editorial Fotoartema. 4° edición corregida y aumentada. Mérida, VE. 67 p.
- Reuveni, R. & Reuveni M. 1998. Foliar fertilizer therapy a concept in integrated pest management. *Crop protection*. pp 111 - 118.
- Robles, B. 2008. Validación de biopesticidas en base a bacterias epífitas para el control de la moniliasis (*moniliophthora roreri* cif y par. *Evans et al.*) en el cultivo de cacao híbrido ccn 51. Tesis Ing. Agr. Escuela Politécnica del Ejército. Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA. Santo Domingo de los Colorados, EC. 118 p.
- Rodriguez, R. 2002. Evaluación de materiales de soporte para la formulación de la bacteria antagonista *Bacillus subtilis* para control de moniliasis *Moniliophthora roreri* en cacao *Theobroma cacao*. Tesis Ing. Agr., Escuela Politécnica del Ejército, Carrera de Ingeniería Agropecuaria - IASA. Sangolquí, EC. pp 11.
- Rodriguez, D; Baez, M. 2002. Manejo agronómico del cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.). Escuela Técnica Agropecuaria Santa Bárbara de Zulia. Santa Bárbara de Zulia, VE. pp 55, 58.

- Rosero, J. 2002. La Ventaja comparativa del cacao Ecuatoriano. (en línea). Consultado 18 dic. 2009. Disponible en: <http://www.bce.fin.ec/documentos/PublicacionesNotas/Catalogo/Apuntes/ae20.pdf>
- Sánchez, J. 1982. Reacción de cultivares de cacao a la inoculación artificial con *Monilia roreri*. Costa Rica. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. CATIE. M.Sc. Tesis. 55 p.
- Sánchez, L.; Gamboa, E.; Rincón, J. 2003; Control químico y cultural de la moniliasis (*Moniliophthora roreri* Cif & Par) del cacao (*Theobroma cacao* L.) en el estado Barinas. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 20; 188-194.
- Sandoval, G. A. Armbrrecht, H.; Granada. G. A. 1987. Posibilidad de control biológico de la moniliasis del cacao. In: 10ma conferencia internacional de investigación en cacao, Actas. Santo Domingo, República Dominicana. Pg 473 – 477.
- Saquicela, D., (2010). Evaluación económica de los componentes del manejo integrado para el control de enfermedades del cacao tipo Nacional. Tesis Ing. Agr. Escuela Politécnica del Ejército. Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA. Santo Domingo de los Colorados, EC.(p. 87)
- Sheng, Ye; Strobel N & Kuc, J. 1995. Induced Systemic Resistance (ISR): Activation of Natural Defense Mechanisms for Plant Disease Control as Part of Integrated Pest Management (IPM) Novel Approches to Integrated Pest Management. Cap. 5. pp 95 - 113.
- Shirasu, K; Nakajima H; Rajasekhar VK; Dixon R & Lamb C. 1997. Salicylic acid potentials an agonist dependent gain control that amplifies pathogen signals in the activation of defense mechanisms. Plant Cell. pp 261 - 270.

- Soberanis,W; Rios, R; Arevalo, E; Zuniga, L; Cabezas, O; Krauss, U. 1999. Increased frequency of phytosanitary pod removal in cacao (*Theobroma cacao*) increases yield economically in eastern Peru.Crop Protection. pp 677 - 685.
- Solís, ZK. 1999. Determinación de organismos antagónicos a *Moniliophthora roreri* a partir de mazorcas de cacao dejadas en el suelo. Tesis Ing. Agr. Universidad de Guayaquil. Guayaquil, EC.
- Sticher, L; Mauch Mani, B. & Métraux J. 1997.Systemic acquired resistance. Annual Review Phytopathology. pp 235 - 270.
- Suárez C., Delgado, J. (1993). Moniliasis del cacao, FUNDAGRO, Quito, Ecuador, (p. 15)
- Suárez, J. 1993. Enfermedades del cacao y su control *In*: Manual del cultivo del cacao. 2da edición. Editado por Estación Experimental Tropical Pichilingue. Publicaciones INIAP. Quito, EC. pp 90 - 106.
- Suarez, C.; Solis. K. 2003. Tácticas de manejo integrado de enfermedades disponibles para producción de cacao orgánico en el Ecuador. *In*: INIAP, GTZ, PROCIANDINO. 2003. Agricultura orgánica. Quevedo, Ecuador. 1 disco compacto, 8 mm.
- Ulhoa, J. 1996. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. (En línea). Consultado el 16 de octubre2007. Disponible en: <http://www.catie.ac.cr/informacion/rmip/rev62/96-100.pdf>
- Vallejo, S; Quingaisa, E. 2005. Nota de competitividad por producto 03/04 Área de políticas, comercio y agronegocios. (en línea). Consultado 31 ago. 2009. Disponible en http://www.agrocadenas.gov.co/cacao/documentos/acuerdo_cacao.pdf

- Vera, J. 1993 a. Antecedentes históricos. *In:* Manual del cultivo del cacao 2da edición. Editado por Estación Experimental Tropical Pichilingue, Publicaciones INIAP. Quito, Ecuador. Pgs 5 – 7.
- Viñas, I., Teixidó N., Abadías, M. Tórres, R. Usall, J., 2003; Información de productos nocivos para agricultura; Consultado el 16 de Octubre del 2007; Disponible en: <http://www.agroinformacion.com/leer-articulo.aspx?not=152#>
- Yáñez, MV. del R. 2003. Producción y formulación de biopreparados a base de *Pseudomonas cepacia*, *Bacillus subtilis* y *Trichoderma sp.* para el control biológico de la Moniliasis del cacao. Maestría en Ciencias del Control Biológico. Departamento de Investigaciones. Carrera de Ingeniería Agropecuaria. Boletín Técnico N° 2. Sangolquí, EC. 36 p.
- Yáñez, MV. del R. 2004; Control biológico de *Moniliophthora roreri* en el campo mediante el uso de biopreparados a base de *Pseudomonas cepacia*, *Bacillus subtilis* en cacao Tenguel 25 (EET 103). Tesis M.Sc. Escuela Politécnica del Ejército. Magíster en Ciencias del Control biológico. Sangolquí, EC. pp 83.

X. ANEXOS


ANEXO 1. Selección del lote experimental y sorteo de parcelas demostrativas en la finca Colinas Garyth.



ANEXO 2. Delimitación e identificación de parcelas demostrativas



ANEXO 3. Análisis foliar antes de la instalación del ensayo.

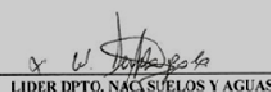


ESTACION EXPERIMENTAL TROPICAL "PICHILINGUE"
LABORATORIO DE SUELOS, TEJIDOS VEGETALES Y AGUAS
 Km. 5 Carretera Quevedo - El Empalme; Apartado 24
 Quevedo - Ecuador Teléfono: 750 - 967 Fax: 751 - 018

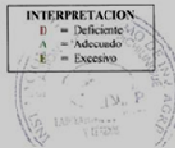
REPORTE DE ANALISIS FOLIARES

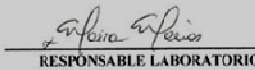
DATOS DEL PROPIETARIO			DATOS DE LA PROPIEDAD				PARA USO DEL LABORATORIO			
Nombre :	Cedeño José Sr.		Nombre :	Celina Garibh			Cultivo :	CACAO		
Dirección :			Provincia :	Santo Domingo de los Tsáchilas			N° de Reporte :	00656		
Ciudad :	Santo Domingo		Cantón :	Santo Domingo			Fecha de Muestreo :	01/10/2010		
Teléfono :			Parroquia :				Fecha de Ingreso :	01/10/2010		
Fax :			Ubicación :	km 21 Vía Sto. Domingo-Quinind			Fecha de Salida :	18/10/2010		

N° Muest. Laborat.	Datos del Lote		(%)							(ppm)						
	Identificación	Area	N	P	K	Ca	Mg	S	Cl	Zn	Cu	Fe	Mn	B	Mo	Na
41373	Lote 1		2,5 E	0,24 E	1,53 D	0,76 D	0,46 A	0,23 E		86 A	12 A	161 A	168 A	68 E		
41374	Lote 2		2,0 A	0,26 E	1,77 A	0,81 D	0,49 A	0,28 E		71 A	12 A	145 A	130 A	76 E		
41375	Lote 3		1,9 A	0,20 E	1,73 A	0,88 D	0,50 A	0,23 E		57 A	10 A	262 E	161 A	63 E		



LIDER DPTO. NAC SUELOS Y AGUAS





RESPONSABLE LABORATORIO

ANEXO 4. Podas de mantenimiento

COD	ACTIVIDAD	AÑO 2010				AÑO 2011													
		SEP	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC		
D	MANEJO ESTRUCTURAL PLANTAS																		
2	PODA MANTENIMIENTO	x	x	x	x	x	x	x	x										



ANEXO 5. Podas fitosanitarias

COD	ACTIVIDAD	AÑO 2010				AÑO 2011												
		SEP	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	
D	MANEJO ESTRUCTURAL PLANTAS																	
	2. DESCHUPONAMIENTO Y RALEO			x x x x				x x x x					x x x x					x x x x



ANEXO 6. Cosecha, clasificación de mazorcas y toma de datos



ANEXO 7. Pesaje de mazorcas



ANEXO 8. Preparación de productos



ANEXO 9. Aplicación de productos en campo




ANEXO 10. Control de malezas

COD	ACTIVIDAD	AÑO 2010				AÑO 2011												
		SEP	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	
A	MANEJO DE MALAS HIERBAS																	
1	CHAPIA MECANICA	x	x	x	x	x									x	x	x	x
2	CONTROL QUIMICO					x	x	x	x	x	x							

ANEXO 10. Fertilización y Análisis de Suelos

COD	ACTIVIDAD	AÑO 2010				AÑO 2011												
		SEP	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	
C	MANEJO NUTRICIONAL																	
1	EDAFICO MACRO		x x			x x				x x						x x		
2	FOLIAR MACRO NUTRIENTES			x x			x x			x x			x x			x x		
3	FOLIAR MICRO NUTRIENTES			x x			x x			x x			x x			x x		
4	FOLIAR BIOESTIMULANTES		x x			x x			x x			x x			x x			

RESULTADOS DE ANALISIS



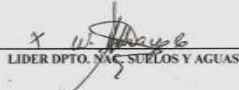
ESTACION EXPERIMENTAL TROPICAL "PICHILINGUE"
LABORATORIO DE SUELOS, TEJIDOS VEGETALES Y AGUAS
 Km. 5 Carretera Quevedo - El Empalme, Apartado 24
 Quevedo - Ecuador Teléfono: 750 - 967 Fax: 751 - 018


REPORTE DE ANALISIS DE SUELOS


DATOS DEL PROPIETARIO			DATOS DE LA PROPIEDAD			PARA USO DEL LABORATORIO			
Nombre :	GARITH S.A		Nombre :	Colina		Cultivo Actual :	Cacao Nacional		
Dirección :			Provincia :	Santo Domingo		N° Reporte :	00656		
Ciudad :	Santo Domingo		Cantón :	Santo Domingo		Fecha de Muestreo :	01/10/2010		
Teléfono :			Parroquia :			Fecha de Ingreso :	01/10/2010		
Fax :			Ubicación :	km 21 Vía a Quinindé		Fecha de Salida :	11/10/2010		

N° Muest. Laborat.	Datos del Lote		pH	ppm			meq/100ml			ppm					
	Identificación	Area		N	P	K	Ca	Mg	S	Zn	Cu	Fe	Mn	B	
53441	Muestra A	10 ha	5,5 Ac RC	40 M	25 A	0,27 M	6 M	1,4 B	11 M	1,9 B	8,6 A	246 A	10,6 M	0,62 A	
53442	Muestra B	10 ha	5,5 Ac RC	39 M	23 A	0,22 M	5 M	1,4 B	9 B	1,5 B	8,2 A	236 A	10,4 M	0,60 A	
53443	Muestra C	7 ha	5,7 MeAc	33 M	21 A	0,19 B	9 A	1,4 B	7 B	1,4 B	6,5 A	223 A	9,7 M	0,80 A	

INTERPRETACION				METODOLOGIA USADA		EXTRACTANTES
pH		Elementos de N a B		pH	Olsen Modificado	
M.Ac = Muy Acido	L.Ac = Liger Acido	L.Al = Liger Alcalino	RC = Requiere Cal	H = Bajo	N.P.K.Ca.Mg.Cu.Fe.Mn.Zn	
Ac = Acido	PN = Prac. Neutro	MeAl = Media. Alcalino		M = Medio	Fosfatos de Calcio Monobásico	
MeAc = Media. Acido	N = Neutro	Al = Alcalino		A = Alto	BS	


 LIDER DPTO. NAC. SUELOS Y AGUAS


 RESPONSABLE LABORATORIO



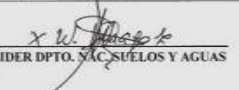
ESTACION EXPERIMENTAL TROPICAL "PICHILINGUE"
LABORATORIO DE SUELOS, TEJIDOS VEGETALES Y AGUAS
 Km. 5 Carretera Quevedo - El Empalme, Apartado 24
 Quevedo - Ecuador Teléfono: 750 - 967 Fax: 751 - 018


REPORTE DE ANALISIS DE SUELOS

DATOS DEL PROPIETARIO			DATOS DE LA PROPIEDAD			PARA USO DEL LABORATORIO			
Nombre :	GARITH S.A		Nombre :	Colina		Cultivo Actual :	Cacao Nacional		
Dirección :			Provincia :	Santo Domingo		N° de Reporte :	00656		
Ciudad :	Santo Domingo		Cantón :	Santo Domingo		Fecha de Muestreo :	01/10/2010		
Teléfono :			Parroquia :			Fecha de Ingreso :	01/10/2010		
Fax :			Ubicación :	km 21 Vía a Quinindé		Fecha de Salida :	11/10/2010		

N° Muest. Laborat.	meq/100ml			dS/m	(%)	Ca	Mg	Ca+Mg	meq/100ml	(meq/l)½	ppm	Textura (%)			Clase Textural
	Al+H	Al	Na									C.E.	M.O.	Mg	
53441					3,4 M	4,2	5,19	27,41	7,67			42	48	10	Franco
53442					2,4 B	3,5	6,36	29,09	6,62			46	46	8	Franco
53443					2,0 B	6,4	7,37	34,74	10,59			46	46	8	Franco

INTERPRETACION				ABREVIATURAS		METODOLOGIA USADA
Al+H, Al y Na		C.E.		M.O. y Cl		C.E. = Conductividad Eléctrica
B = Bajo	NS = No Salino	S = Salino	R = Bajo			M.O. = Materia Orgánica
M = Medio	LS = Lig. Salino	MS = Muy Salino	Al = Medio			AI+H = Titulación de Walkley Black
T = Tóxico			A = Alto			


 LIDER DPTO. NAC. SUELOS Y AGUAS


 RESPONSABLE LABORATORIO

ANEXO 11. Evaluaciones y tomas de datos realizadas (a partir de la 6ta fumigación)

Nº de Evaluación	Fechas de Evaluación
1	10 de Febrero 2011
2	24 de Febrero 2011
3	10 de Marzo 2011
4	25 de Marzo 2011
5	07 de Abril 2011
6	21 de Abril 2011
7	06 de Mayo 2011
8	19 de Mayo 2011
9	02 de Junio 2011
10	16 de Junio 2011
11	30 de Junio 2011
12	14 de Julio 2011
13	28 de Julio 2011
14	11 de Agosto 2011
15	25 de Agosto 2011
16	08 de Septiembre 2011
17	22 de Septiembre 2011
18	06 de Octubre 2011
19	20 de Octubre 2011

ANEXO 12. Aplicaciones de tratamientos durante el ensayo

N° de Aplicaciones	Fechas de Aplicación
1	12 de Octubre 2010
2	02 de Noviembre 2010
3	23 de Noviembre 2010
4	14 de Diciembre 2010
5	04 de Enero 2011
6	25 de Enero 2011
7	15 Febrero 2011
8	08 de Marzo 2011
9	29 de Marzo 2011
10	19 de Abril 2011
11	10 de Mayo 2011
12	31 de Mayo 2011
13	21 de Junio 2011
14	12 de Julio 2011
15	02 de Agosto 2011
16	23 de Agosto 2011
17	13 de Septiembre 2011
18	04 de Octubre 2011

ANEXO 13. Acondicionamiento de soportes**ANEXO 14. Preparación de aislados de *Pseudomonas cepacia* y *Bacillus subtilis***

ANEXO 15. Control de calidad de biopreparados Basubtil (*B. subtilis*) y Cepacide (*P. cepacia*) a los seis meses de elaboración.



RESULTADOS DE CONTROL DE CALIDAD

PARÁMETROS	Basubtil (<i>Bacillus subtilis</i>)	Cepacide (<i>Pseudomona cepacia</i>)
pH	6.89	7.58
% Humedad	51.25	31.46
# Colonias – R1	Incontable	465
# Colonias – R2	328	478
# Colonias – R3	381	479
Concentración ufc/g	$3,545 \times 10^7$ *	$4,740 \times 10^7$ *
Pureza	+	-
Tiempo de Incubación	41 Horas	41 Horas
Temperatura	25.1°C	25.1°C

*Valor calculado en base a metodología de Falconí (1998)