

UNIVERSIDAD NACIONAL INTERCULTURAL DE QUILLABAMBA

VICE PRESIDENCIA DE INVESTIGACION



PROYECTO DE INVESTIGACION

**RESISTENCIA DE CLONES DE CACAO
CHUNCHO A *Moniliophthora perniciosa* Y
CONTROL DE ESCOBA DE BRUJA EN LA
CONVENCION**

**INVESTIGADOR RESPONSABLE: Ph.D. Fanny Rosario Márquez
Romero**

**INTEGRANTES: Mg. Wilton Henry Céspedes del Pozo
Dr. Luis Fortunato Morales Aranibar
Mg. Alfredo Modesto Marcavillaca
Ing. Carlos Rodríguez Callañaupa
Ph.D. Jorge R. Díaz Valderrama**

***Aprobado: Quillabamba, octubre de 2019
Modificado: Quillabamba, abril de 2021***

I. TITULO: RESISTENCIA DE 42 CLONES DE CACAO CHUNCHO A *Moniliophthora perniciosa* E INNOVACION EN EL CONTROL DE ESCOBA DE BRUJA EN LA CONVENCION

- Equipo de trabajo:

CARGO	NOMBRE	Departamento académico	Correo electrónico
Investigador responsable	Ph.D. Fanny Rosario Márquez Romero	Ingeniería Agronómica Tropical	fanny.marquez@uniq.edu.pe
Investigador asociado	Mg. Wilton Henry Céspedes del Pozo	Ingeniería Agronómica Tropical	Wilton.cespedes@uniq.edu.pe
Investigador asociado	Dr. Luis Fortunato Morales Aranibar	Ciencias básicas	luis.morales@uniq.edu.pe
Integrante	Mg. Alfredo Modesto Marcavillaca	Ciencias básicas	alfredo.marcavillaca@uniq.edu.pe
Integrante	Ing. Carlos Armando Rodríguez Callañaupa	Experto nacional en Sanidad de cacao	crodriguez2014@gmail.com
Integrante	Ph.D. Jorge Ronny Díaz Valderrama	Experto internacional en caracterización molecular de la Purdue University de USA	Jronny.diaz@gmail.com

- **Tipo de Proyecto:** Experimental y descriptivo.
- **Línea de investigación:**
Líneas de Investigación Institucionales de la UNIQ: “Desarrollo sustentable del cacao”.
- **Monto de financiamiento: S/ 2,114,665.50**
- **Plazo de ejecución:** 24 meses.
- **Localización de la investigación:**
 - País: Perú
 - Región: Cusco
 - Provincia: La Convención

II. RESUMEN

Con la finalidad de mejorar las formas de control de la enfermedad escoba de bruja (*M. perniciosa*) del cacao se plantea realizar en la Estación Experimental de Sahuayaco en el distrito de Echarate, provincia de La Convención, un estudio sobre la resistencia de los clones de cacao chuncho a la escoba de bruja, se caracterizará morfológica y molecularmente mediante el uso de descriptores cualitativos y cuantitativos así como se extraerá ADN para analizarlos y encontrar grupos que presenten resistencia a la escoba de bruja, se determinará el nivel de patogenicidad y virulencia del patógeno, para lo cual se debe producir basidiocarpos en forma artificial, así como se determinará las áreas de mayor incidencia de la enfermedad en la provincia mediante mapeos georeferenciados, determinación, evaluar las diferentes formas de control y entregar a los agricultores información que sea fácil de aplicar, económica y eficiente, para lograr estos objetivos será necesario implementar un laboratorio de fitopatología y un vivero en Sahuayaco, capacitar a los profesionales en técnicas de micología, microscopía en el Instituto de Cultivos Tropicales de Tarapoto y recibir asesoría especializada en visitas de seguimiento y supervisión en Sahuayaco y Quillabamba y los resultados serán publicados en revistas científicas.

PALABRAS CLAVES: *Theobroma cacao*, *Moniliophthora perniciosa*, resistencia, producción basidiocarpos, métodos de control, innovación, transferencia tecnológica.

INTRODUCCION

En el escenario agrícola nacional, Cusco y en específico la provincia de La Convención se distingue porque produce 6837 tm de grano seco de cacao, que equivale al 20 % de la producción nacional en el año 2008, habiendo descendido el rendimiento en una tasa anual de 8% desde el año 1998 (MINAG, 2010). Las condiciones ambientales favorables y la tradición de cultivar cacao chuncho favorecen la obtención de un producto de alta calidad que contribuye a la economía local y a la generación de divisas para el país. El cacao de esta región, constituido básicamente por materiales trinitarios es emblemático y se caracteriza por sus cualidades de aroma y sabor. El producto que se obtiene es la mezcla de diferentes tipos de materiales genéticos, provenientes del cruzamiento natural o controlado por el hombre.

Un análisis del cultivo indica que la situación no es la más adecuada, predominan plantaciones viejas con una productividad promedio baja y un progresivo deterioro genético debido al reemplazo de cultivares primitivos y a la presión de las enfermedades como la escoba de bruja que es una de las enfermedades que causan las mayores pérdidas en el cultivo porque ataca a la mayor parte de órganos principales de las plantas de cacao; el incidencia de la enfermedad escoba de bruja es de 65% aproximadamente, causando pérdidas de hasta un 90% de la producción en cacaotales no manejados.

El basidiomiceto *Moniliophthora perniciosa*, agente causal de la enfermedad de la escoba de bruja, es uno de los agentes patógenos del cacao más dañinos. Este hongo infecta todos los tejidos meristemáticos, flor, cojines florales, hoja, frutos y tallo (Silva Et Al., 2002).

En el Perú, las investigaciones realizadas sobre el basidiomiceto *Moniliophthora perniciosa* son escasas y se relacionan principalmente a la búsqueda de genotipos resistentes y las mejores fuentes de resistencia, la accesión 'Scavina 6' y 'Scavina 12' fueron obtenidas en Perú por la Libra (1938; 1943). Estas accesiones le mostraron inmunidad a la enfermedad en Trinidad (Bartley, 1981), susceptibilidad en Ecuador (Rios-Ruiz, 1989) y Perú (Anderbrhan Et Al (Bartley, 1994).

El control de la escoba de bruja es complejo debido a la alta capacidad de formación de nuevos inóculos, a la variabilidad genética del patógeno, a la existencia de un genotipo que mantenga su resistencia en diferentes zonas productoras, al alto tamaño de las plantas en cacaotales de cacao chuncho, a la poca información del ciclo patogénico y las condiciones que la favorecen.

III. PROBLEMA OBJETO DEL ESTUDIO

La provincia de La Convención presenta cultivos de cacao en toda su extensión, los cuales son afectados por diversas enfermedades, uno de ellas es la escoba de bruja, de la que no se tiene un diagnóstico preciso, tampoco se cuenta con un plan de manejo integrado de la escoba de bruja que incluya conocimiento científico actual, realizándose un control de manera esporádica y sin planificación.

En la Estación de Sahuayaco se ha colectado 42 clones de cacao chuncho con gran potencial genético, de las cuales es necesario determinar su capacidad de resistencia a escoba de bruja y su diversidad genética, lo que servirá de base para plantear programas de recuperación de áreas de cacao chuncho con material genético valioso.

Moniliophthora perniciosa (Stabel) Aime & Phillips-Mora es un patógeno de reproducción sexual y no se conoce su diversidad genética en el Perú.

La determinación de la diversidad genética y su capacidad infectiva, parasítica y de dispersión necesitan de una técnica apropiada de producción de basidiocarpos que son los cuerpos fructíferos que producen las basidiosporas que serán estudiadas y utilizadas en las diferentes fases del proyecto de investigación, todos estos aspectos son necesarios resolver y mejorar de esta manera la cacaocultura de calidad en la provincia de La Convención.

PREGUNTAS DE INVESTIGACION

- a) Cuál es la diferencia a nivel morfológico y molecular de las 42 accesiones de cacao chuncho colectadas en Sahuayaco?
- b) Cómo se producen basidiocarpos de *M. perniciosa* en medios artificiales?
- c) Todos los aislamientos de *M. perniciosa* de las diferentes zonas productoras tienen la misma capacidad infectiva para producir la enfermedad?
- d) ¿Todas las zonas productoras de cacao de la provincia de La Convención están infestadas con *M. perniciosa*?
- e) Las accesiones de cacao chuncho colectadas en Sahuayaco presentan niveles de resistencia a la escoba de bruja?
- f) Cuál será el método más eficiente para el control de la escoba de bruja?
- g) Cuál será el nivel de adopción de la tecnología lograda por parte de los agricultores cacaotaleros?

IV. OBJETIVOS

Objetivo general:

Determinar la resistencia de 42 clones de cacao chuncho a *Moniliophthora perniciosa* e innovar en el control de escoba de bruja en La Convención.

Objetivos específicos:

1. Caracterizar morfológica y molecularmente 42 clones de cacao chuncho del jardín clonal de Sahuayaco- La Convención.
2. Validar y estandarizar una metodología eficiente que permita la producción de basidiocarpos en medios artificiales.
3. Determinar la patogenicidad y virulencia de *M. perniciosa* en cacao.
4. Determinar áreas de mayor incidencia de *M. perniciosa* en cacao de la provincia de La Convención.
5. Determinar los niveles de resistencia a *M. perniciosa* de 42 clones de cacao chuncho del jardín clonal de Sahuayaco La Convención.
6. Determinar metodologías de control eficientes de *M. perniciosa* en cacao.
7. Transferir la tecnología lograda a agricultores cacaoteros de la Provincia de La Convención.

V. HIPÓTESIS

Hipótesis general:

Existe clones de cacao chuncho resistentes a *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips y la innovación en los métodos de control de la “escoba de bruja” permitirá contribuir a la reducción del ataque del hongo causante de la enfermedad.

Hipótesis específicas:

- a) Existen diferencias morfológicas y moleculares en clones de cacao Chuncho procedente de la provincia de La Convención.
- b) Los medios de cultivo basados en agar permitirán el crecimiento de basidiocarpos.
- c) Existe diferencias entre los diferentes aislados de diferentes zonas productoras en cuanto a patogenicidad y virulencia de *M. perniciosa* en cacao.
- d) Las áreas productoras de cacao de la provincia de La Convención presentan diferentes niveles de incidencia de escoba de bruja.
- e) De los 42 clones de cacao chuncho del jardín clonal de Sahuayaco- La Convención, existen cinco clones que presentan niveles de resistencia a Escoba de bruja.

- f) Existen métodos de control eficientes y económicos para *M. perniciosa*.
- g) La transferencia de la tecnología lograda a agricultores cacaoteros permitirá disminuir el efecto de la enfermedad “Escoba de bruja” por debajo del nivel de daño económico.

VI. RESULTADOS ESPERADOS DEL FINANCIAMIENTO

Meta	Descripción
3	Personas capacitadas en pasantías nacionales
3	Personas capacitadas en pasantías internacionales
2	Artículos presentados en revista indizada
2	Ponencias realizadas a nivel nacional
1	Ponencias realizadas a nivel internacional
2	Publicaciones presentadas para libro de resúmenes de evento nacional.
1	Publicaciones presentadas para libro de resúmenes de evento internacional
3	Tesis para título profesional presentada
1	Tesis de post grado presentada
1	Publicación de boletín informativo y de extensión
3	Taller de extensión y de transferencia de tecnología
1	Evento de lanzamiento del proyecto de investigación

VII. JUSTIFICACION

La escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips Mora) es la enfermedad que causa mayores daños a la producción de cacao después de la moniliasis (*Moniliophthora roreri* (Cif & Par) Evans et al.), cuando se presenta una alta incidencia puede ocasionar pérdidas superiores al 80% y en etapas avanzadas, muerte de árboles (Aranzazu, 2000). La enfermedad ocasiona el deterioro progresivo de los árboles ya que ataca solamente los puntos meristemáticos, atrofiando el crecimiento del árbol y disminuyendo gradualmente la producción.

El Perú cuenta con diversas zonas con condiciones adecuadas para producir cacao con excelente calidad. Según los estudios del Ministerio de agricultura (MINAG, 2002), la principal zona de producción de cacao, son los valles de la provincia de La Convención en la región Cusco con una producción de 8026 tm, seguido del valle río de Apurímac en los departamentos de Ayacucho (4603 tm), Cusco y Junín (2549 tm), y los departamentos de Huánuco, Amazonas, San Martín, entre otros, sin embargo el rendimiento está disminuyendo continuamente tal es el caso que en el Cusco se tiene un incremento negativo del rendimiento en 8% anual desde hace 10 años, manteniéndose este detrimento desde hace 3 décadas por diversos factores negativos, como el terrorismo y las enfermedades Moniliasis y Escoba de bruja, que no son controladas adecuadamente, por lo que las importaciones de cacao han ido aumentando desde 1998 en un 0,4% anualmente.

La determinación de la variación genética de las poblaciones de *Theobroma cacao* en la Amazonía peruana tiene importancia en el programa de mejoramiento del cacao, buscando resistencia a la escoba de bruja. , los nuevos cultivares son necesarios para proporcionar una base más amplia de resistencia a enfermedades devastadoras como la enfermedad de escoba de bruja (*M. perniciosa* (Stahel)).

Un factor limitante en la realización de trabajo de investigación con este patógeno, es la poca disponibilidad de inóculo infeccioso en el campo, debido a la estacionalidad y la fuerte influencia de las condiciones climáticas en la producción de los basidiocarpos. El producir basidiocarpos de *M. perniciosa*, en el medio artificial permitirá disponer de forma permanente del inóculo, indispensable para desarrollar pruebas de patogenicidad, pruebas de resistencia en genotipos, estudios de biología y ensayos de antagonismo

Las políticas nacionales, regionales y locales incluyen la preocupación del manejo de las enfermedades y las consideran dentro de los planes de desarrollo, tal como sucede en la región Cusco donde se considera al desarrollo del sector agrícola y preservación de la biodiversidad genética como una de sus prioridades y en el ámbito provincial la sanidad vegetal es una de las principales preocupaciones.

La investigación científica en este patógeno permitirá a los productores la innovación en los campos de cultivos en cuanto al manejo de la enfermedad y por consiguiente disminuirá las pérdidas ocasionadas por este hongo, considerando especialmente que en la provincia de La Convención las plantas tienen alto porte, presentan alta variabilidad genética y se carece de la información necesaria adaptada a las condiciones agroecológicas de la provincia.

VIII. MARCO TEÓRICO, TÉCNICO Y CONCEPTUAL

8.1 La planta hospedante (*Theobroma cacao*).

El centro de la diversidad genética de *T. cacao* es la región del Amazonas Brasileiro en Sur América. El cacao es una planta perenne de la región del Neotrópico. *Theobroma* junto a otros dos géneros, *Herrania* y *Guazuma*, pertenecen a la familia Esterculiáceas. *T. cacao*, es la única especie cultivada, que ha alcanzado alturas mayores de 15 metros en el bosque Neotrópico, y bajos condiciones de cultivo presenta rangos entre 5 a 8 metros. Cerca de las tres cuartas partes de la producción mundial de cacao se encuentra entre latitudes de 8°N y 8°S, y el máximo de latitud es de 24°S en Sao Paulo, Brasil. El rango anual de precipitación en las mayores áreas de producción es de 1250 a 2800 mm. El cacao crece en alturas de 1000 msnm, pero puede producir favorablemente en alturas de 1300 m cerca de Manizales, Colombia. (Purdy y Schmidt, 1996).

8.1.1 Origen y descripción

El género *Theobroma*, según **Urquhart (1963)**, es originario del nuevo mundo y desde México hasta Perú se encuentran especies silvestres, con su aparente centro de Origen en la Cuenca del Alto Amazonas. El árbol de cacao *Theobroma cacao* L., pertenece al estrato inferior de los bosques bajos, ha sido cultivado desde los tiempos prehistóricos por los indios del Sur y Centro América, y las opiniones se dividen en cuanto a si en la actualidad se le encuentra en estado silvestre verdadero o solamente en áreas que en algún tiempo han sufrido la intervención del hombre.

Wood (1982), menciona que el Cacao (*Theobroma cacao* L.) es nativo del nuevo mundo, y la especie se extiende desde el sur de México hasta las zonas tropicales de selva de Brasil, Bolivia y Perú, se considera que el centro de origen está en la cuenca del alto Amazonas y del Orinoco.

8.1.2 Taxonomía y clasificación

Hardy (1961), presenta los siguientes datos taxonómicos.

Reino	: Vegetal
División	: Fanerógamas
Clase	: Dicotiledóneas
Orden	: Malvales
Familia	: Esterculeaceae
Género	. <i>Theobroma</i>
Especie	: <i>Theobroma cacao</i> L.

8.1.3 Variabilidad

Lachenaud (1997) citado por DEVIDA (2004), sobre la base de estudios moleculares y argumentos paleoclimáticos paleográficos y geobotánicas, propuso 4 grupos o compuestos germoplásmicos naturales con su correspondiente distribución geográfica.

Cuadro 01: Grupos de cacao y distribución geográfica.

GRUPOS DE CACAO	DISTRIBUCION GEOGRAFICA
Criollos	América central, Colombia y Venezuela
Amazonas o Forastero del alto Amazonas	Peru, Ecuador, Colômbia, Bolívia y Brasil
Guyanas o forasteros del bajo Amazonas	Meseta de las Guyanas, Venezuela, Suriran, Guyana Francesa y Brasil.
Nacional o Criollo	Zona costera del Ecuador.

Las variedades de cacao Trinitario, fue una población segregante que se originó de la cruce entre variedades amelonada de Guyanas (Forasteros) y una población de Criollos de Venezuela.

Cacao “Chuncho”

Rodríguez, 2008, señala que el valle de La Convención – Cusco cuenta con 14500 hectáreas de cacao , el 60% es de cacao tipo chuncho, es un tipo especial de cacao en la cuenca del alto Amazonas(Cuenca del río Urubamba), este cacao nativo fue domesticado por las comunidades nativas Machiguengas.

Cuadro 01: CARACTERÍSTICAS DEL CACAO CHUNCHO DE LA CONVENCION

Características	Descripción	Observaciones
Nº Plantas Colectadas	47	
Tipo de cacao (ecotipo)	“CHUNCHO”	
Edad plantas	> de 40 años	
Altura árbol	Mayores de 5 m.	
Compatibilidad sexual	Auto incompatibles	Solo, en plantas estudiadas
Color de frutos	Amarillo	
Forma mazorca	Cundeamor, Calabacillo, Angoleta y Amelonado	
Rugosidad mazorca	Verrugoso y liso	
Nº Mazorcas/planta	Abundante, intermedio	Abundante: >100; bajo:<30
Nº Almendras/mazorca	Mayores a 32 almendras	Excepto planta MHS-3★
Tamaño de mazorca	Medianos a grandes	Grande >20cm; pequeño:<12cm

Tamaño de almendras	Medianos a grandes	Peso: grande>1.2g ; pequeño<0.8g
Espesor de cascara	Delgados y medianos	Grueso>1.2cm.; delgado<0.6cm.
Incidencia enfermedad	Baja y ausente	MMS-1 Monilia: ausente
Otras observaciones	Nombres de cultivares: pamuco, señorita , sábaló, achoccha, emilia y chuncho	

★ Tiene 28 almendras en promedio, MHS-3 y MMS-1 es denominación preliminar

Fuente: Rodríguez C. 2008.

8.1.4 Morfología

a. El Sistema radical

Braudeau, (1970), menciona que la raíz principal o primaria puede alcanzar de 30 a 40 cm en cuatro o cinco meses y de 70 a 80 cm al cabo de cinco o seis años. Al llegar a este estado de desarrollo, se divide por lo general en varias raíces verticales que la prolongan y cuyo diámetro disminuye progresivamente. A los diez años, la raíz primaria ha alcanzado prácticamente su desarrollo definitivo y su longitud varía de 0,80 a 1,5 m, aunque puede llegar a alcanzar los 2 m.

En plantas originadas a partir de fragmentos de madera plagiótrofos sacados de jóvenes ramas, sólo emiten raíces laterales que, durante largos meses, son las únicas en desarrollarse.

b. Tallo

Braudeau, (1970), indica que después de la aparición de las primeras hojas de la joven plántula, la yema Terminal prosigue su desarrollo y el tallo crece verticalmente (ortotropía). Las hojas, largamente pecioladas, y en cuyas axilas se pueden ver una o varias yemas axilares, están dispuestas según una filotaxis $3/8$ y que puede variar a $5/13$. Las ramas del cacao al igual que otras especies de *Theobroma* son dimorfitas. Unas crecen verticalmente hacia arriba (tallos y chupones) y las otras oblicuamente hacia afuera. Todas las yemas axilares del eje ortótrofo dan, si se desarrollan, retoños ortótrofos. Tales renuevos o chupones, se desarrollan corrientemente ya sea en la base del tronco, ya sea en su cima. El tallo de las plantas provenientes de semilla crecen como un sólo tallo hasta alcanzar de 1-1,5 m de altura a la edad de unos catorce meses en esta edad la yema terminal detiene su crecimiento y emerge aparentemente al mismo nivel a un que de diferentes nudos, de 3 a 5 ramas laterales a este verticilo un ángulo aproximado de 45° .

c. Hoja

Las hojas jóvenes que aparecen al tiempo de cada brotadura son muy a menudo pigmentadas y su color puede variar, según los cultivares o los clones, del verde pálido más o menos

rosado al violeta subido. De consistencia blanda, estas hojas son péndulas. Vienen acompañadas en su base por dos estípulas que se desprenden y caen rápidamente.

En el curso de su maduración las hojas pierden su pigmentación, toman un color verde oscuro y adquieren una rigidez que les permite tomar una postura subhorizontal. Al envejecer, las hojas pierden su flexibilidad y se hacen quebradizas.

d. Inflorescencia

La inflorescencia es una cima bípara de ramificaciones muy cortas (de 1 a 2 mm). La posición de las inflorescencias sobre el tronco y las ramas sigue, como es natural, la filotaxia de estos órganos. Se pueden contar a veces más inflorescencias que el número de nudos que hay sobre un tallo: corresponden a los entrenudos, muy cortos, que señalan el inicio de cada brotación foliar, en los que hay varios nudos muy próximos unos de otros que no llevan más que pequeñas hojas efímeras. Las flores aparecen sobre la corteza vieja, bien sea en el tronco bien sea en las ramas principales o en las ramificaciones secundarias por su parte deshojada. La primera floración se puede producir a la edad de dos años en variedades muy precoces, pero aparece más corrientemente en el tercero o cuarto año. El cacao puede florecer durante todo el año. Las flores del cacao nacen directamente en la madera vieja del tallo principal y de las ramas laterales, rasgo denominado cauliflora. La flor del cacao está sostenida por un pedicelo de 1 a 3 cm.; Es de pequeña talla (su diámetro varía de 0,5 a 1 cm), regular pentámera.

e. Fruto

Rohan, 1964, indica que botánicamente el fruto de cacao es una drupa pero comúnmente se la llama mazorca, tiene una cáscara relativamente gruesa que encierra unas 30 a 40 semillas sumergidas en una pulpa mucilaginoso. La forma y el aspecto de la mazorca varían según el tipo del cacao.

f. Semilla

Braudeau, (1970) indica que la semilla del cacao se llama vulgarmente “haba” o “grano” de cacao. El grano de cacao es una semilla tal como es extraída del fruto maduro. El grano de cacao es una semilla sin albumen que tiene la forma de una haba más o menos gruesa, de 2 a 3 cm de longitud y recubierta por una pulpa mucilaginoso de color blanco, de sabor azucarado y ácido.

8.1.5 Fisiología

Braudeau, (1970), Sobre la fisiología del cacao menciona lo siguiente:

a. Efecto de la temperatura

La temperatura juega un papel predominante en el desarrollo de las yemas y en el número de brotaduras foliares producidas a lo largo del año. Estas, en efecto, aparecen durante los periodos en que la temperatura del aire es más elevada (superior a 26° C). La floración es muy reducida cuando la temperatura media es inferior a 23 °C. Es mucho más abundante cuando aumenta la temperatura diurna, a condición de que la temperatura nocturna no sobrepase los 27 °C. Una temperatura no es, sin embargo, el único factor en juego, teniendo la pluviometría un papel por lo menos tan importante: la floración es extremadamente reducida durante la estación seca.

b. Influencia de la luz

Alvin (1958), menciona que los estomas de la hoja del cacao, expuestos a la intensidad luminosa máxima, permanecen completamente abiertos, mientras que el abastecimiento de agua sea suficiente para mantener la turgencia de las células: En condiciones de sombra los estomas empiezan a cerrarse cuando la intensidad luminosa se reduce al 5 % de la intensidad máxima. Léeme (1955), demostró que la fotosíntesis aparente, medida por la cantidad de gas carbónico absorbido por la planta, aumenta con la intensidad luminosa hasta un óptimo que corresponde a un 25% de la luminosidad total. Por el contrario, la asimilación media diaria sólo aumenta insignificamente con una iluminación relativa superior al 25%. Las intensidades luminosas fuertes tienen un efecto depresivo sobre la fotosíntesis.

8.1.6 Requerimientos ecológicos

a. Temperatura

DEVIDA, (2004), menciona que la temperatura es determinante en el desarrollo del cultivo de cacao: Crecimiento, Floración y Fructificación. La temperatura media anual debe estar alrededor de 24 a 26 °C y nunca exceder de 30 ° C, la temperatura media diaria no debe ser inferior a 15 ° C. La oscilación diaria de temperatura entre el día y la noche no debe ser inferior a 9 °C.

b. Precipitación

Braudeau, (1970), señala que el crecimiento y la pluviosidad del cacao van estrechamente ligados a su provisión de agua. El cacao es, en efecto, muy sensible a una deficiencia hídrica. Además, la precipitación interviene no solamente por su abundancia sino también por su distribución anual. Pero es evidente que la pluviosidad óptima sólo puede definirse con precisión en función de todos los factores que afectan la provisión de agua, y en particular de la naturaleza del suelo, de su profundidad, de sus propiedades físicas y de su poder de retención de agua.

c. Humedad relativa

DEVIDA (2004), señala que la humedad relativa está en relación directa con la distribución de las lluvias y debe ser mayor al 70%. Un factor determinante que favorece el aumento de

la humedad relativa y aumenta el ataque de plagas y enfermedades, es el manejo de la sombra permanente.

d. Luminosidad

ICT (2004), considera que una intensidad lumínica menor del 50% del total de luz, limita los rendimientos mientras que una intensidad lumínica ligeramente superior al 50% del total de luz lo incrementa.

e. Altitud

ICT (2004), menciona que el cacao es una planta que en las diferentes zonas cacaoteras del mundo se cultiva desde el nivel del mar hasta alturas considerables (1400 msnm), siendo el rango óptimo de 250 a 900 msnm; fuera de este límite las plantas sufren alteraciones fisiológicas que afectan el potencial productivo lo que se refleja en un menor rendimiento y baja rentabilidad para el productor.

f. Suelo

ICT (2002), menciona que los suelos más apropiados son los aluviales de textura franca: arcillo arenosa y arena arcillosa; sin embargo se ha observado una gran adaptabilidad a suelos en laderas con pendientes mayores a 25% aún con afloramiento rocoso en un rango muy amplio de reacción del suelo (pH 5,0 a 7,5). También se puede sembrar en laderas con manejo de coberturas establecidas a curvas de nivel.

8.1.7 Labores culturales

ICT (2004), reportan preferencias del cultivo por potasio y magnesio, obviamente en razón de la extracción de mazorcas y la conversión de manteca como producto principal, de acuerdo a los niveles de extracción por cosecha; el abonamiento sugerido para recuperar la copa y producción en el primer año es de 400 a 500 g/planta de mezcla, bajo la fórmula 90-30-60 de N, P, K aplicado en un radio de 1,50 m alrededor del tronco. Sin embargo esta fórmula no es aplicable a todos los tipos de suelo por lo que se sugiere realizar los análisis de suelo respectivo a fin de establecer una fórmula de abonamiento con el equilibrio particular para cada condición, en función a la extracción de nutrientes para una determinada producción de almendra seca de cacao. El abonamiento debe realizarse de acuerdo al calendario de podas, siempre antes del inicio de la poda, para disminuir costos de mano de obra. La fertilización no tiene efecto deseable si es que el árbol de cacao no ha sido podado y no habrá efecto esperado de la poda si no se realiza una adecuada fertilización. Se define a las podas como quitar las partes vegetativas que por alguna razón le sobran, pero sin debilitarlo o causarle daño. El propósito es mantenerlo sano con buena facilidad de manejo y capacidad productiva.

La cosecha debe ser efectuada a intervalos regulares que deberían ser en término medio de 10 a 15 días y no deberían en ningún caso exceder de las 3 semanas. La recolección se debe

realizar con ayuda de un cuchillo o machete bien afilado cuando las mazorcas son accesibles directamente; para las mazorcas más altas se utiliza un dispositivo especial. En lugares donde hay presencia de enfermedades en las mazorcas, es necesaria una recolección más frecuente para limitar los inóculos de la enfermedad. Se deben recoger todas las mazorcas enfermas y luego ser eliminadas.

a. Plagas y enfermedades

Wood (1982), menciona que resulta difícil estimar las pérdidas de cosecha de cacao causadas por enfermedades, Hale (1953), calculó que las pérdidas ocasionadas tanto por plagas como por enfermedades ascendían al 21% de la producción potencial a nivel mundial. El ataque de una enfermedad puede ocasionar una pérdida directa de cosecha como en el caso de la mazorca negra, moniliasis y otras enfermedades del fruto, o pueden debilitar al árbol hasta llegar a matarlo como en el caso de *Ceratocystis*. Para contrarrestar las enfermedades primero es necesario identificar la causa y luego evaluar el daño que puede causar. Por último, se deben considerar las posibles medidas de control y tomar una decisión respecto a si vale la pena aplicarlas.

Las principales enfermedades que atacan al cacao son Pudrición parda (*Phytophthora palmivora* (E. J. Butler), Moniliasis (*Moniliophthora roreri*, Escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*, Mal de machete, *Ceratocystis fimbriata*. Las Plagas reportadas en el Perú son Mosquilla del cacao (*Monalonium dissimulatum*), Trips o bichos de candela (*Selenotrips rubrocinctus*), Chinche negro (*Epicoris sp.*, *Antiteuchus tripterus*), Hormiga picacuro (*Solenopsis sp.*), Hormiga arriera (*Atta cephalotes*), Descortezador del cacaotero (*Steirastoma breve*), perforador del tronco (*Xyleborus ferrugineus*), áfidos y pulgones (*Mysus sp.*) (ICT, 2004).

8.2 ESCOBA DE BRUJA (*Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora)

8.2.1 Sintomatología

La enfermedad escoba de bruja fue descrita por primera vez por Went (1904) en cuanto al agente causal fue descubierto en 1915 por el patólogo alemán Gerald Stahel clasificándolo como *Marasmius pernicius* (Stahel, 1915). Existen datos de la existencia de la enfermedad en la Amazonia desde 1785 (Purdy y Schmidt, 1996).

Existe considerable variación de los síntomas de escoba de bruja dependiendo del cultivar, del tipo de tejido infectado y de la etapa de desarrollo del tejido (Pereira, 2000). *M. perniciosa* invade tejidos meristemáticos del hospedero provocando hinchazón de la parte afectada. Ese síntoma es producto de la rápida división celular (hipertrofia) e incremento del tamaño de las células (hiperplasia) que aparece acompañado de la proliferación de superbrotamientos debido a la pérdida de dominancia apical. Formándose estructuras de hojas grandes, curvadas y retorcidas con apariencia de escobas, que da el nombre a la enfermedad (Griffith *e col.*, 2003). Cuando jóvenes, las escobas son de color verde intenso, a los 2 meses dan una coloración marrón a la copa de los árboles infectados.

Cuando la infección afecta a las flores y frutos jóvenes (antes de las 12 semanas después de la polinización), pueden formarse escobas y frutos deformados (Baker, 1957). La infección de cojines florales produce flores anormales que pueden producir frutos que crecen con malformaciones muriendo prematuramente. Ovarios no fertilizados e infestados pueden continuar su desarrollo y producir frutos de menos de 5 cm de diámetro llamados “chirimoyo”. La infección directa del fruto puede provocar desarrollo de una forma típica de necrosis con semillas acuosas y posterior necrosis, causando la muerte y momificación del fruto (Pereira, 2000).

El desarrollo del fruto infestado genera grandes variaciones de síntomas. Pueden producirse infecciones cerradas que son visibles cuando el fruto es abierto. El fruto puede presentar lesiones necróticas oscuras con bordes irregulares.

8.2.2 Etiología

El agente causal de la escoba de bruja fue inicialmente clasificado como *Marasmius perniciosus* (Stahel, 1915) y reclasificado por Singer en 1942 (Singer, 1942) como *Crinipellis perniciosa*. Recientemente Aime & Phillips-Mora (2005) realizaron estudios tanto morfológicos y moleculares y colocaron al biotipo patogénico (C) dentro del género *Moniliophthora*, perteneciente a la familia Tricholomataceae del orden Agaricales.

Las especies del género *Crinipellis* presentan una amplia gama de hospederos, por lo que los aislados del hongo pueden ser agrupados de acuerdo con el género que infectan, denominados biotipos (Griffith e Hedger, 1994a). La clasificación de *C. perniciosa* en biotipos está basada en datos de patogenicidad en relación a la diversidad de hospederos (Wheeler, 1988). Se pueden diferenciar cinco biotipos: El biotipo cacao (biotipo C) que infecta fundamentalmente *Theobroma cacao* y *Herrania* spp. (Evans, 1978), o biotipo S que infecta Solanáceas (Bastos e Evans, 1985); el biotipo B que infecta especies de la familia Bixaceae (Purdy e Schmidt, 1996), el biotipo H que infecta *Heteropterys acutifolia* A. Juss (Griffith e col., 2003) y el biotipo L que infecta lianas de las familias Malpighiaceae e Bignoneaceae; este último actúa como endofítico causando una infección latente de formación de escobas (Evans, 1977; Griffith e Hedger, 1994a; Griffith e col., 2003) el biotipo L, así como la mayoría de los basidiomicetos, presenta una estrategia reproductiva auto-infértil. Los biotipos C, B, H y S causan los síntomas de escoba de bruja en sus respectivos hospederos y exhiben una estrategia reproductiva autofértil. Estas diferencias entre los biotipos incentivarán la realización de estudios que permitirán la reclasificación de estos hongos en diferentes especies. Tal es el caso del biotipo C transferido para el género *Moniliophthora* (Aime e Phillips-Mora, 2005). Posteriormente el biotipo H también fue descrito como una nueva especie, *Crinipellis brasiliensis*, distinta a los biotipos C e S (De Arruda et al., 2005).

Ciclo de vida de *Moniliophthora perniciosa*

Moniliophthora perniciosa es un patógeno hemibiotrófico (Purdy e Schmidt, 1996) presentando dos tipos de nutrición: biotrófica o parasítica y saprofitica o necrótrfica. En *M. perniciosa*, las diferentes fases de crecimiento del hongo pueden ser asociadas a cambios en la biología del micelio vegetativo.

Inicialmente, las basidiosporas hialinas y uninucleadas, que constituyen la unidad infectiva del hongo, son dispersadas por el viento o lluvias durante la noche garantizando un tiempo de sobrevivencia mayor ya que son sensibles a la luz ultravioleta y al desecamiento. El grado de dispersión de las basidiósporas determina la propagación de la enfermedad. Las basidiósporas forman tubos germinativos (uno o dos) y penetran por los estomas, por penetración directa por la epidermis con la formación de haustorios. Las basidiósporas germinan en tejidos de crecimiento rápido como el tejido meristemático (yemas vegetativas o florales) en los frutos jóvenes inducen la aparición de los síntomas. Durante esta fase, el hongo obtiene energía viviendo como un parasito intercelular obligado o biótrofo. El hongo en esta fase está caracterizado por presentar micelio monocariótico sin poros de conexión. La Figura 01 presenta el ciclo de vida del hongo asociado al desarrollo de la enfermedad.

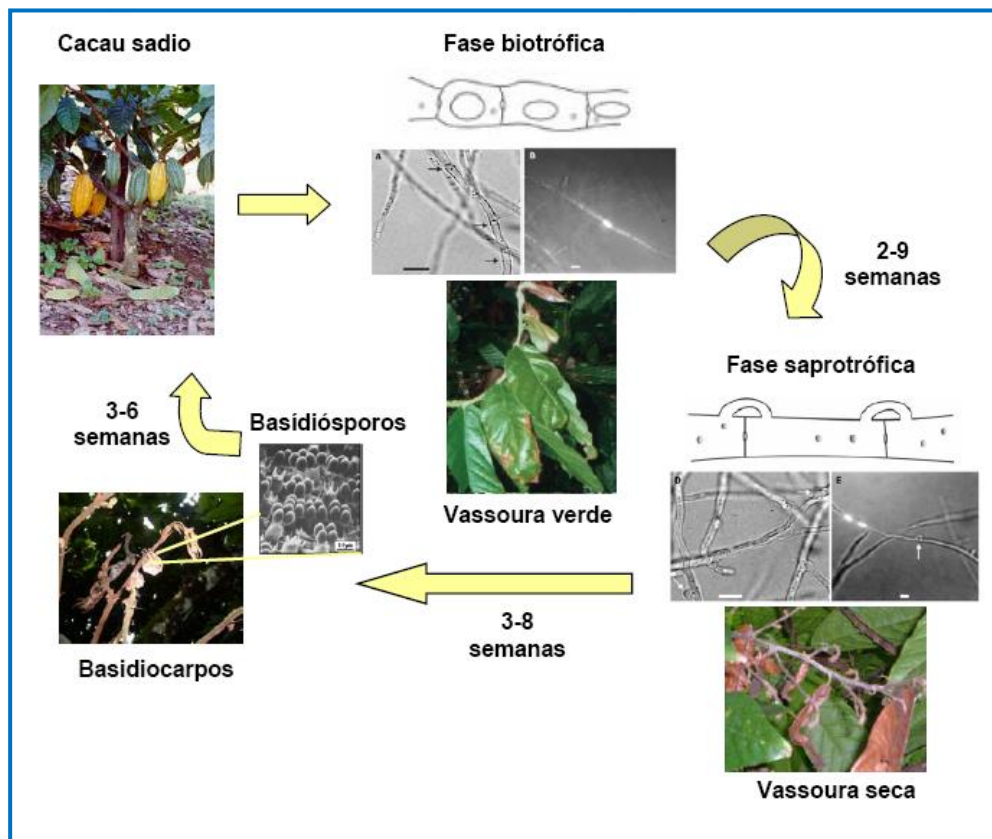


Figura 01: . Ciclo de vida de *M. perniciosa*. Microscopia electrónica de Meinhardt *e col.* 2005.

M. perniciosa tiene carácter homotálico. Esta naturaleza autofértil fue observada en estudios citológicos mediante la dicarionización de hifas monocarióticas derivadas de una única basidiospora (Delgado e Cook, 1976). La capacidad de que el biotipo C sea capaz de formar basidiocarpos a partir de una única basidiospora sin cruzar con otro individuo es de vital importancia para la epidemiología de la escoba de bruja (Griffith *e col.*, 2003).

Doce semanas después de iniciada la infección, los tejidos infectados comienzan un proceso de senescencia y son colonizados inter e intracelularmente por las hifas saprofitas del hongo. Estas hifas son dicarióticas y presentan poros de conexión, necesarios para la mantención de los dos núcleos por célula (Delgado e Cook, 1976; Evans, 1980; Griffith e

Hedger, 1994b). La teoría existente es que las hifas saprofíticas se forman como resultado de la fusión de hifas intercelulares, proceso denominado plasmogamia (Delgado e Cook, 1976). Las escobas senescentes se tornan marrones formando estructuras llamadas escobas secas. Después de un período latente de tres a nueve meses, las escobas secas comienzan a producir cuerpos fructíferos denominados basidiocarpos, completando un ciclo de vida de *M. pernicioso* (Wheeler e Suárez, 1993; Purdy e Schmidt, 1996).

8.2.3 Variabilidad morfológica y molecular.

Existen variaciones patogénicas entre aislados de *M. pernicioso* (Stahel) Aime & Phillips-Mora obtenidos a partir de diferentes áreas productoras de cacao. Estudios genéticos demostraron que poblaciones del patógeno también son genéticamente diferentes, poblaciones del biotipo C-homotálico son más homogéneas que las poblaciones de parientes no patogénicos (ejm: biotipo-L de cipós).

8.3 Estrategias de Control de la Escoba de bruja

Las prácticas de poda fitosanitaria y la aplicación de fungicidas en frutos en desarrollo son las herramientas más utilizadas para el control de la enfermedad (Bastos, 1996b). La utilización de fungicidas es casi impracticable para cultivos de árboles tropicales y es ineficiente en áreas de alto índice de lluvias. Varios compuestos han sido utilizados como fungicidas como es el caso de cobre triazol y de tebuconazol (Oliveira, 1999). Esta estrategia resulta muy onerosa porque depende de los precios de los fungicidas que sufren un aumento continuo, sin embargo, los retornos generados por el cultivo del cacao no siguen tal incremento (Pereira, 2000). La remoción de fuentes de inóculo por la poda fitosanitaria es efectiva para el control de la escoba de bruja, pero debe ser efectuada antes del período de floración. Todos los tejidos infestados, vivos o muertos, deben ser retirados.

Una nueva arma utilizada por agricultores contra la Escoba de bruja es el control biológico mediante la utilización del hongo *Trichoderma* sp como antagonista de *M. pernicioso* (Bastos, 1996a; Bastos, 1996b). Estudios comprobaron que las Escobas, una vez colonizadas por *T. viride*, no producen basidiocarpos (Bastos, 1996a). El mecanismo propuesto para la interacción *M. pernicioso*-*T. viride* es el micoparasitismo. La muerte del hongo *M. pernicioso* no es debido a la producción de antibióticos activos sino por la acción de enzimas hidrolíticas de las paredes como proteasas, amilasas y celulasas (De Marco, 2003). Sanogo (2002) mostró que *T. stromaticum* es un parásito del micelio y basidiocarpos de *M. pernicioso*. Estudios paralelos tratan de explorar la posibilidad de utilizar hongos endofíticos de tejidos meristemáticos de cacao capaces de inhibir el establecimiento y colonización de *M. pernicioso* (Griffith, 2004; Rubini, 2005).

Un método más promisorio en el largo plazo para el control de la enfermedad es aumentar la resistencia genética del cacao (Baker, 1957). Estudios realizados identificaron algunos clones de Scavina (Sca 6 y Sca 12) y el clon IMC 67 presentando alto grado de resistencia a *M. pernicioso*. Progenies de esos clones dieron origen al híbrido TSH plantado en Trinidad y al cual se le atribuyen bajos niveles de Escoba de bruja en ese país (Laker, 1989). Entretanto, SCA 6 plantada en Ecuador se tornó susceptible (Bartley, 1986).

A pesar de los esfuerzos destinados a esta área no existe una estrategia totalmente eficiente de control para la Escoba de bruja.

Control de “Escoba de bruja” en la provincia de La Convención:

Díaz, (2010) recomienda el control cultural a través de la poda sanitaria de ramas, cojines florales y frutos afectados, raleo de la sombra y la poda de mantenimiento del cacaotal; las podas se deben realizar entre agosto y octubre y posteriormente en enero y febrero.

El control químico no se recomienda, salvo en plantaciones con producción superior a 1000 kg/ha, en cuanto al control genético, existen clones tolerantes a la escoba como el IMC 67, CCN-51 Y P-12.

8.3.1 Producción artificial de basidiocarpos

A lo largo de los años se han realizado numerosas investigaciones encaminadas a conseguir la producción de basidiocarpos en medios artificiales, en un comienzo estos fueron infructuosas o poco eficientes (Merchán, 1980; Correa, 1983; Prudy et al, 1983; Wheeler, 1985;). En la actualidad se cuenta con metodologías estandarizadas y eficientes para la producción de basidiocarpos en medios artificiales (Griffith y Hedger, 1993; Niella et al, 1999). Aunque existen técnicas de conservación, estas pueden disminuir la viabilidad de las basidiosporas. Los estudios en cámaras húmedas de producción de basidiocarpos en las escobas han demostrado que la humedad y ausencia de esta son un factor importante en su desarrollo, y Rocha & Wheeler indican que a 8 horas en húmedo y 16 horas en secado son los óptimos.

8.4 Marcadores Moleculares

El pequeño número de marcadores morfológicos distintos en un mismo linaje reduce la probabilidad de encontrar asociaciones significativas entre estos marcadores y caracteres de importancia económica a través del estudio de poblaciones segregantes. Por lo tanto, solo ocasionalmente eran identificados marcadores morfológicos ligados a los genes de importancia económica, lo cual limitaba su empleo en programas de mejoramiento genético (Tanksley et al 1995). Con el desarrollo de técnicas modernas de biología molecular, surgieron diversos métodos de detección de polimorfismo genético directamente al nivel de ADN. Inicialmente, la utilización de enzimas de restricción permitió el análisis del polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción de ADN (Restriction fragment Length Polymorphism - RFLP), (Beckman 1991). El proceso de amplificación de la cadena de ADN polimerasa- PCR (Saiki et al. 1988), llevó a la descripción de otras clases de marcadores moleculares. Estas metodologías, aliadas a las técnicas de clonación y secuenciación del ADN, han hecho posible obtener y acumular gran número de información sobre la estructura del genoma eucariótico. Estas nuevas tecnologías contribuyeron al descubrimiento y estudio de diversas clases de secuencias repetitivas de ADN llamadas Mini y Microsatélites (Beckman 1991).

Avances y descubrimientos de la cadena de ADN

Las técnicas de biología molecular, y en particular el uso de marcadores moleculares, ha permitido conocer y caracterizar el contenido genético de los organismos, así como, estimar la diversidad y las relaciones genéticas entre grupos de interés. Los avances históricos de los marcadores moleculares se presentan a continuación (Phillips-Mora, 1998):

- 1953 Descubrimiento de la cadena de ADN por Watson y Crick.
- 1954 Se realizan los primeros estudios genéticos usando electroforesis.
- 1970 Aislamiento de la primera endonucleasas de restricción.
- 1974 Marcadores RFLP
- 1975 Reacción en cadena de polimeraza (PCR) (Saiki et al. 1985)
- 1989 Marcadores microsátélites.
- 1990 Marcadores RAPDs (Williams et al. 1990, Welsh y McClelland 1990)
- 1995 Marcadores AFLP (Vos P. et al 1995),

Es así, que la caracterización molecular usando estos marcadores tiene varias ventajas, tales como: 1) No es influenciada por el ambiente; 2) Puede ser usada cualquier parte de la planta en cualquier estado de crecimiento; 3) el número de análisis es ilimitado; 4) se requiere de pequeñas cantidades de material vegetal 5) ADN es altamente ilimitado; 6) alto polimorfismo (número de aletas / locus); y 7) distribuidos por todo el genoma (León 1998).

8.5 Relación entre la caracterización morfológica y molecular

La diversidad genética de un cultivo se puede estudiar por medio de las más avanzadas técnicas moleculares y también por los rasgos morfológicos. La diversidad molecular no considera las interacciones genotipo por medio ambiente; por lo tanto, estas dos técnicas se complementan una con otra (Taba 1991). Los descriptores cualitativos son independientes del genotipo y del medio ambiente e incluyen caracteres morfológicos y agronómicos útiles como por ejemplo precocidad o resistencia a sequía, no todos ellos son convenientes para el estudio de la biodiversidad (Hamon et al 1995). El problema es el grado de concordancia entre los marcadores moleculares y las características morfo-agronómicas que a pesar de que la zona ecológica es útil en el establecimiento de colecciones núcleo, no existe siempre una clara correlación entre la distancia geográfica y la distancia genética (Lefort-Busson y De Vienne 1985). Gepts (1995) concluye que esta relación entre los marcadores moleculares y agromorfológicos es posible siempre para poder identificar mostrando o no concordancia entre patrones de diversidad identificados por marcadores moleculares y rasgos morfológicos. Hiliis (1987), aporta un argumento útil manifestando que los trabajos morfológicos en grandes colecciones y los marcadores moleculares en pequeñas muestras y estudios, si se combinan maximizan la información y su utilidad.

8.6 Innovaciones en el cultivo de cacao.

Innovación, la innovación agrícola es un proceso social complejo que involucra a una variedad de actores, no es simplemente la transferencia o difusión de tecnologías, conocimientos o ideas, El enredamiento para la innovación es el proceso en el cual los actores sociales buscan, establecen y manejan relaciones interactivas con los actores pertenecientes a su “especialidad”

u otras diferentes. El objetivo es intercambiar ideas, aprender en conjunto y reflexionar para buscar soluciones a problemas (Rodríguez y Ortiz 2007).

La probabilidad de adopción de las innovaciones propuestas por el Proyecto Cacao Orgánico en el alto Beni en Bolivia, varió ampliamente entre el 24 y el 100%, con un promedio de 76%. Las recomendaciones con menores posibilidades de adopción fueron la utilización de altas densidades de plantación (3 x 3 m), la supresión del uso del fuego en la preparación del sitio, la incorporación de materia orgánica al fondo del hoyo en el momento de plantar, la regulación de sombra y el deshierbe selectivo para reclutar árboles útiles de la regeneración natural. Las recomendaciones sobre el método e instrumentos de poda tuvieron un nivel medio de adopción. Las prácticas de producción orgánica, el uso de materiales clonales e injertos y la venta del cacao fueron las innovaciones con mayores porcentajes de adopción prospectiva.

Factores socioeconómicos que afectaron la adopción de las innovaciones

Los modelos Logit permitieron estimar la probabilidad de que los productores adopten o no una innovación tecnológica en función de sus características socioeconómicas con un 53-95% de acierto, dependiendo de las innovaciones. Diferentes variables predijeron el comportamiento de los productores ante diferentes innovaciones. El nivel de educación de los productores y el tamaño de la familia han sido identificados por otros autores como factores importantes en la adopción de innovaciones (Valdez 1983, Almeida et al. 1999, Illanes 1995).

IX. METODOLOGIA

Los métodos que se utilizarán en el proyecto de investigación se detallan a continuación de acuerdo a los objetivos planteados:

9.1 CARACTERIZACION MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE CLONES DE CACAO CHUNCHO DE LA PROVINCIA DE LA CONVENCION.

Este objetivo se logrará con la participación de un estudiante en proceso de graduación mediante tesis, en un periodo de cinco meses, quien realizará la caracterización morfológica en la EET Sahuayaco y en conjunto con el equipo del proyecto se enviará el material genético para su caracterización molecular, con cuyos resultados se procesará estadísticamente la variabilidad genética y sus probables fuentes de resistencia.

9.1.1 Ámbito temporal y geográfico del estudio.

El estudio morfológico se realizará a partir de 42 clones de cacao chuncho de la colección de genotipos de la Estación Experimental Tropical Sahuayaco, ubicada en el Km. 45 vía Quillabamba-Kiteni, Provincia de La Convención, con una altitud de 820 msnm y sus coordenadas geográficas son 72° 44' 58" Longitud Oeste y 12° 41' 43" latitud, con una temperatura promedio de 27 ° C y una precipitación pluvial promedio de 1200 mm anuales, distribuidos entre los meses de noviembre a abril.

El secuenciamiento genético de los clones de cacao se realizará en el laboratorio de Biotecnología de la Purdue University de Estados Unidos, para lo cual se extraerá el ADN en los laboratorios de Biotecnología de la UNIQ.

El jardín clonal tiene las siguientes características:

La topografía del área experimental tiene 15 % de pendiente y el arreglo en la instalación se encuentra en tres bloques que incluyen cada uno 14 accesiones de clones de cacao chuncho provenientes de plantas madres seleccionadas por diferentes características positivas, cada accesión consta de 7 plantas de una edad promedio de 8 años (Figura 02).

**Croquis actual de la parcela de Cacao Chuncho-
Sahuayaco- La Convención**

N.M.



	BLOQUE I		BLOQUE II		BLOQUE III
CC-1	o o o o o o o	CC-15	o o o o o o o	CC-29	o o o o o o o
CC-2	o o o o o o o	CC-16	o o o o o o o	CC-30	o o o o o o o
CC-3	o o o o o o o	CC-17	o o o o o o o	CC-31	o o o o o o o
CC-4	o o o o o o o	CC-18	o o o o o o o	CC-32	o o o o o o o
CC-5	o o o o o o o	CC-19	o o o o o o o	CC-33	o o o o o o o
CC-6	o o o o o o o	CC-20	o o o o o o o	CC-34	o o o o o o o
CC-7	o o o o o o o	CC-21	o o o o o o o	CC-35	o o o o o o o
CC-8	o o o o o o o	CC-22	o o o o o o o	CC-36	o o o o o o o
CC-9	o o o o o o o	CC-23	o o o o o o o	CC-37	o o o o o o o
CC-10	o o o o o o o	CC-24	o o o o o o o	CC-38	o o o o o o o
CC-11	o o o o o o o	CC-25	o o o o o o o	CC-39	o o o o o o o
CC-12	o o o o o o o	CC-26	o o o o o o o	CC-40	o o o o o o o
CC-13	o o o o o o o	CC-27	o o o o o o o	CC-41	o o o o o o o
CC-14	o o o o o o o	CC-28	o o o o o o o	CC-42	o o o o o o o

LEYENDA

O = P. Injertadas en crecimiento

Figura 02: Croquis del jardín clonal de “cacao chuncho” de la EET Sahuayaco.

9.1.2 Población y muestra.

Para la caracterización molecular y fenológica se utilizarán 42 clones elites de cacao Chuncho de la colección de germoplasma del EET Sahuayaco. Dentro de estos materiales se incluye clones con resistencia a escoba de bruja, producto de la prospección, selección y recolección en el ámbito de finca de productores de cacao en todas las zonas cacaoteras de La Convención donde aún se encuentra árboles de cacao con ascendencia de tipo Nacional.

Los productores identificaron de manera participativa árboles sobresalientes de edad avanzada, productivos y sin escoba de bruja, cuya resistencia de campo será evaluada posteriormente mediante inoculaciones artificiales y seguimiento durante dos años.

9.1.3 Técnicas e instrumentos de colecta de datos.

Para la caracterización molecular, primeramente, se realizará una recolección de material vegetal (hojas maduras) de clones de cacao chuncho procedentes de la colección del germoplasma de la EET Sahuayaco, las que serán enviadas al Laboratorio de Biotecnología

de la UNIQ, la misma que será implementada con motivo de este trabajo de investigación, donde se realizará la extracción de ADN, cuantificación del ADN, selección de la combinación de "primers" y amplificación de marcadores.

Para la amplificación se realizará la digestión del ADN, ligación, pre amplificación, amplificación, desnaturalización, preparación del gel de poliacrilamida, montaje de las muestras y revelado del gel de poliacrilamida.

9.1.4 Caracterización morfológica in-situ

Se utilizará una lista de descriptores para cacao publicadas en 1981 por el Consejo Internacional de Recursos Fitogenéticos IBGRI (ahora Bioversity International) y los descriptores cualitativos y cuantitativos publicados por Engels et al. (1980). Se utilizarán 13 descriptores de fruto y semilla, que se podrán realizar en condiciones de campo, (ver anexo 05)

Características de fruto

De cada accesión se evaluarán al menos tres mazorcas fisiológicamente maduras sin síntomas de enfermedad. Se evaluarán y registrarán tres características cuantitativas (largo, diámetro, peso) y cuatro cualitativas (forma de mazorca, forma del ápice, forma de la base, color de la mazorca)

Análisis estadístico de datos morfológico

Para analizar los datos que se obtendrán en los diferentes procesos se utilizarán diferentes métodos de análisis, los cuales describimos a continuación:

a) **Análisis de Varianza**

Para el estudio de las variables morfológicas se usará un diseño irrestricto al azar y ANOVA.

b) **Análisis de conglomerados**

Se realizará análisis clusters o de conglomerados para conformar grupos y analizar las similitudes entre cacaos con base en las variables cuantitativas y sitios de colecta y para determinar similitudes entre las selecciones élites, se usará el programa STAHPGRAPHICS.

c) **Análisis de componentes principales**

Se usa para identificar las variables que más peso tienen para diferenciar los tipos de cacao. Con un gráfico Biplot se analizará la relación entre sitios y variables.

9.1.5 Caracterización Molecular

La extracción de ADN a partir de muestras de hoja se realizará en el laboratorio del Biotecnología y Fitopatología de la UNIQ. Las muestras del ADN se enviarán al laboratorio de Biotecnología de la Purdue University de Estados Unidos.

El material experimental consistirá en hojas sanas y secas colectadas del jardín clonal de cacao chuncho de la EET-Sahuayaco.

Extracción de ADN

Se realizará en los laboratorios de Biotecnología y Fitopatología de la UNIQ, donde se emplearán Kits para extracción del ADN estandarizados para cacao. Las muestras de ADN serán cuantificadas, liofilizadas y enviadas a Purdue University, para seguir el proceso en el secuenciador.

Cuantificación de ADN

Se realizará a través de electroforesis en gel de agarosa al 1 % en una cámara de electroforesis. Para ello se preparará 110 ml de TBE 1X, Buffer 10 X, se agrega 1 g de agarosa, se calienta por 1,5 minutos en microondas. Se prepara una bandeja de electroforesis donde se colocan 4 gotas de bromuro de etilo y luego se chorrea el gel. Se utilizarán 20 bl de preparación (ADN, agua y búfer de carga 6x). Para preparar cada muestra se agregará 10 bl de ADN, 7 bl de agua destilada y 3 bl del búfer 6X). Las muestras se colocarán en el gel junto a un marcador de peso, testigo y agua. Se dejarán migrar por un tiempo de 40 minutos a 100 watts. Esta técnica se basa en la cuantificación de fluorescencia producida por el bromuro de etilo en el ADN a través de una cámara de luz ultravioleta.

Amplificación de ADN

Para la amplificación de ADN se utilizará la metodología de Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR). Se utilizarán los iniciadores para microsatélites seleccionados para la caracterización molecular de cacao (Loor y Amores 2003). Los resultados son bandas que indican la homocigocidad, si son copias del mismo alelo ó la heterocigocidad, si son alelos diferentes.

Análisis de datos moleculares

El análisis de datos moleculares se realizará con el software CEQ 8000 Series Genetic Analysis System Software y el análisis estadístico con el programa INFOGEN con base a los datos obtenidos de las amplificaciones de ADN. Con el peso molecular de cada alelo se construirá una base de datos las cuales se realizará los siguientes análisis estadísticos:

- Determinación de marcadores polimórficos
- Análisis de conglomerados
- Análisis de consenso entre características moleculares y morfológicas

9.2 METODOLOGÍA DE PRODUCCIÓN DE BASIDIOCARPOS EN MEDIOS ARTIFICIALES.

Es importante resaltar que *M. pernicioso* es un patógeno que para cumplir con su ciclo de vida necesita pasar por una etapa biótrofa y otra saprótrofa y es la fase biótrofa la que es difícil de lograr en medios artificiales, a nivel mundial se reportan algunas experiencias en cuanto a métodos de producción artificial de basidiocarpos, sin embargo a nivel nacional no se cuenta con esta información. La temperatura, humedad relativa, presión atmosférica, tipos de equipos y medios de cultivo son factores que influyen en la producción de basidiocarpos, por lo que es necesario realizar pruebas iniciales y comparar los diferentes métodos propuestos por la bibliografía para lograr producir basidiocarpos en cantidad y número suficiente que permita lograr los siguientes objetivos. A continuación se propone una metodología para lograr medios de cultivo eficientes considerando el tiempo de producción y el número de basidiocarpos que puede formar un determinado medio.

9.2.1 Ubicación.

La producción de basidiocarpos en medios artificiales se realizará en el laboratorio de Microbiología y Fitopatología de la Universidad Nacional Intercultural de Quillabamba, ubicada a 1050 msnm, con temperatura promedio anual de 25° C, precipitación anual de 1100 mm y una humedad relativa promedio del 70%. Esta investigación se iniciará en el primer semestre del primer año y se tiene un plazo total de un año.

9.2.2 Población y muestra.

Los inóculos o aislados (basidiocarpos) serán recolectados de tres zonas productoras (Saniriato, Sahuayaco y Huayopata), que están ubicadas en 500, 850 y 1200 msnm respectivamente, de donde se coleccionarán escobas verdes, secas y en pleno proceso de producción de basidiocarpos y el aislamiento del patógeno se realizará por la técnica de descarga de basidiosporas (Frías et al, 1991).

9.2.3 Técnicas e instrumentos de colecta de datos.

Los medios artificiales a evaluar, serán seleccionados con base a reportes literarios previos (Amartey et al, 2003) donde son recomendados como eficaces para el crecimiento de hongos basidiomicetos, grupo en el cual se encuentra incluido *M. pernicioso*.

Las basidiosporas serán sembradas en diferentes medios sintéticos, con el propósito de determinar el más eficiente para el crecimiento miceliar del hongo, los medios utilizados (tratamientos) serán:

- AHM (Agar 1.5% - Harina de maíz 4%),
- PDA (papa 20%, Dextrosa 2% - Agar 2%),
- SABOURAND (Peptona 1% y Agar 2%),

- YMPGAT (Extracto de levadura 0.2%, Extracto de malta 1%, Peptona 0.2%, Glucosa 1%, Agar 2%, Timina 0.1%) y Agar – agua (Agar 2%).

Una vez que el hongo sea sembrado en el medio se tomarán lecturas periódicas de crecimiento miceliar en milímetros durante 14 días.

Para producir basidiocarpos en medios artificiales se montarán tres ensayos, cada uno con una metodología específica:

- a. Producción de ramas secas en cacao: Consiste en coleccionar ramas tiernas sanas de cacao de cinco diferentes clones, colocarlas en erlenmeyers en una capa de 2 cm de espesor, remojar con agua destilada, tapar y autoclavar, posteriormente cada erlenmeyer se inocula en la cámara de flujo laminar, con un disco miceliar de 4 mm de diámetro, proveniente de una colonia de *M. pernicioso* en crecimiento activo (Merchán, 1980). Se realizarán observaciones semanales para identificar primordios y basidiocarpos, durante un tiempo de 10 meses.
- b. Producción en ramas secas y medio sintético: Los Erlenmeyer que contendrán medio PDA, serán inoculados en cámara de flujo, con un disco de 4 mm de diámetro de una colonia de *M. pernicioso* en activo crecimiento y simultáneamente se colocará en posición vertical 3 ramas tiernas sanas estériles, de uno de los clones, posteriormente los erlenmeyer serán tapados e incubados durante un tiempo de 10 meses; se realizarán observaciones semanales para identificar primordios y basidiocarpos (Wheeler, 1985).
- c. Medio bran-vermiculite: consiste en la preparación del medio inerte desarrollado por Griffith y Hedger, 1993 y modificado de acuerdo a la recomendación de Niella et al, 1999, duplicando la cantidad de $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, utilizando 12 g y no 6 g como era la recomendación de Griffith y Hedger, 1993, quien observó una producción significativamente mayor de basidiocarpos al incluir este ajuste y optimizó su eficiencia respecto a la producción de destilado estéril, a intervalos de irrigación suspensión de 4 días, se realizarán observaciones semanales para identificar primordios y basidiocarpos.

9.2.4 Técnicas de análisis de la información.

Se realizarán observaciones semanales para identificar primordios y basidiocarpos. Los resultados al cabo de 200 días serán procesados mediante el paquete estadístico Info sat, donde se realizara un análisis de varianza simple y la comparación de medias.

9.3 PATOGENICIDAD Y VIRULENCIA DE AISLAMIENTOS de *Moniliophthora pernicioso* (Stahel) Aime & Phillips –Mora EN CACAO.

Con la finalidad de conocer las diferencias entre las cepas de escoba de bruja provenientes de tres zonas cacaoteras diferentes y su probable variabilidad en patogenicidad y virulencia se realizará este componente de la investigación, Esta etapa requiere de cepas de escobas, clones

susceptibles, basidiocarpos producidos en laboratorio, invernadero para la crianza de las plántulas.

9.3.1 Ámbito temporal y geográfico del estudio.

Esta parte de la investigación se realizará en el laboratorio de Microbiología y Fitopatología de la UNIQ, a partir del octavo mes de iniciado el trabajo de investigación.

9.3.2 Población y muestra.

Se seleccionarán clones de cacao chuncho susceptibles a *M. pernicioso* de la colección del germoplasma de la EET Sahuayaco, calificadas de esta forma mediante evaluaciones de incidencia natural de la enfermedad. Así mismo, se colectarán basidiocarpos de tres diferentes zonas productoras de cacao con la finalidad de obtener tres aislados de inóculos para realizar las pruebas de patogenicidad sobre los clones de cacao chuncho.

5.3.1 Técnicas e instrumentos de colecta de datos.

a. Aislamiento del inóculo

El inóculo (basidiocarpos) serán recolectados de tres zonas productoras de cacao de La Convención, el **aislamiento** del patógeno se realizará por la técnica de descarga de basidiosporas (Frías et al, 1991).

b. Producción de basidiocarpos

Para la producción de basidiocarpos se utilizará el Medio bran vermiculita, que está compuesta de Vermiculita: 40g; salvado: 50g; Ca-SO₄.2H₂O: 12gr; CaCO₃: 1.5g; escobas secas finas trituradas: 25g y agua destilada 150 ml. Los ingredientes serán mezclados, y dispensados en placas petri, colocando 30gr de la mezcla por placa, se autoclavarán por 30 min, permitiendo el enfriamiento entre cada proceso durante toda la noche. El medio será inoculado con 6 discos de 5mm de diámetro del borde externo de colonias de *M. pernicioso*, de 12 días de desarrollo. Las placas se incubarán a temperatura ambiente, inicialmente en oscuridad (1 semana), posteriormente puesta en luz natural, hasta que el medio sea colonizado completamente (tres a cuatro semanas). Una vez el sustrato este completamente colonizado, las tortas serán colocadas en una cámara húmeda, y se iniciara la irrigación con agua destilada estéril, a un intervalo de irrigación suspensión de 4 días. (Duración un mes y medio) (Rocha Niella, 2000).

c. Preparación del inóculo

Los basidiocarpos producidos serán pegados en la tapa de una placa petri con vaselina. Para ser llevadas a cámara húmeda por 2 días. La tapa de la placa petri se coloca sobre un vaso de contenedor magnético barra de agitación sumergida en la solución: 16% de glicerol (160

ml de glicerol, 1.95g MES (2 (N-MOPHOLINA ETHANESULFINIC ACID)), 840ml de agua desionizada, ajustada a pH 6,2 con NaOH saturado; y 0,01% de Tween 20 añadido inmediatamente antes del uso. Así mismo, se determinara el porcentaje de germinación de basidiosporas de cada lote de inóculo. Se pondrá 0,12 ml de la solución recogida de suspensión de esporas en 1,2% de agar de agua en placas de Petri de 60 mm. Después de 18 horas (overnight) a 27°C, se detiene y la germinación de esporas se tiñe mediante la colocación de siete gotas de 0,01% de azul tripán en lactofenol en la superficie de agar. El porcentaje de germinación se determinará contando los 150 a 200 basidiospora en microscópicos seleccionados al azar en cada una de las cinco placas de Petri. el porcentaje de germinación de basidiosporas en la solución de la recogida será utilizada para obtener un número conocido de basidiosporas viables/ml para la inoculación. (Kruschewsky Duarte, 1997).

d. Producción de plantas

De los genotipos seleccionados que presenten susceptibilidad a la enfermedad, se obtendrán semillas de frutos de polinización libre, y serán pre-germinadas durante 48 horas en aserrín estéril y humedecido. Después de ese periodo, se plantarán en una bolsa de plástico conteniendo aproximadamente 300 g de humus esterilizada. Las plantas de semillero se tendrán en condiciones de invernaderos de casa de 3 a 4 semanas, antes de la inoculación. (Kruschewsky Duarte, 1998).

e. Aplicación del inóculo a las plantas

Plantas de 30 días de crecimiento serán inoculadas por aspersión con una suspensión de 7.5×10^5 basidiosporas viables/ml se aplica aproximadamente 0,5 ml de la suspensión de basidiosporas/planta (Kruschewsky Duarte, 1997).

f. Incubación de las plantas

Después de la inoculación, las plantas serán colocadas en una cámara húmeda a 27 ° C con humedad relativa del 100%. Después de las 24 horas, las plantas serán devueltas a la de efecto invernadero, y sus respuestas a la inoculación se registrarán después de 60 días utilizando la escala de calificación. (Kruschewsky Duarte, 1997).

g. Variables a evaluar:

- Número de escobas y primordios a los 15, 30,45 y 60 días de inoculado.
- Longitud y diámetro de la base de las escobas.
- Incidencia de *M. pernicioso*.
- Análisis de datos: Análisis de varianza simple y comparación de medias

9.4 .INCIDENCIA DE *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips –Mora EN CACAO EN LA PROVINCIA DE LA CONVENCIÓN.

9.4.1 Lugar de ejecución

La investigación se realizará en cinco distritos de la Provincia de La Convención en el departamento del Cusco (Santa Ana, Echarate, Huayopata, Vilcabamba y Santa Ana). Los distritos serán considerados como unidades de muestreo que comprenden a un conjunto de unidades de análisis (unidad agrícola de cacao).



Figura 03: Mapa de ubicación de la provincia de La convención – Cusco.

La provincia de La Convención cuenta con una variabilidad alta en cuanto a climas y tipos de suelo, siendo estas características, las que hacen propicia su capacidad de producir cacao de excelente calidad. Las zonas productoras de cacao se encuentran entre los 300 y 1300 msnm y presentan una precipitación pluvial promedio de alrededor de 1100 mm, con temperaturas promedio de 25 °C.

9.4.2 Población y muestra

Unidad de análisis

Es la unidad básica en la que se genera la información primaria objeto del estudio y que, por tanto, será objeto de observación y medición, en nuestra investigación será la finca con plantaciones de cacao con una extensión mínima de una hectárea.

Población:

Fincas cacaoteras de cuatro distritos de la Provincia de La Convención (Santa Ana, Echarate, Huayopata, Vilcabamba).

Tamaño de muestra:

Será calculado mediante el método de proporciones y se utilizará la siguiente fórmula:

$$n = \frac{\frac{4PQ}{d^2}}{\frac{\frac{4PQ}{d^2} - 1}{N} + 1}$$

DONDE:

- n: tamaño de muestra
N: Población Objetivo (Universo)
P: Probabilidad de acierto 0.5
(generalmente se asume este valor)
Q: Probabilidad de error 0.5
d: % de error

Selección de la muestra:

Será una muestra probabilística y estadísticamente representativa. El muestreo será de conglomerados (muestreo por áreas) con probabilidad proporcional a su tamaño

Distrito	N° de Agricultores cacaotaleros	$w_i = N_i / N$	$n_i = n w_i$
Santa Ana	$N_1 = n$	$W_1 =$	
Vilcabamba	$N_2 = n_2$	W_2	
Echarati	$N_3 = n_3$	W_3	
Huayopata	$N_4 = n_4$	W_4	
Total		100	1

9.4.3 Técnicas e instrumentos de colecta de datos.

Muestreo en unidad agrícola

En un lote de una hectárea, el muestreo será determinado de la siguiente manera:

Recorra el lote y elija 2 plantas cada 4 ó 5 filas o curvas de nivel, haciendo un total de 10 filas o curvas muestreadas cada una con 2 plantas de cacao seleccionados al azar, tratando de cubrir toda el área.

Evaluación de incidencia

En cada planta se evalúa la presencia de escobas de bruja. Se obtendrá el porcentaje de incidencia, al deducir el número de plantas evaluadas versus el número de plantas afectadas por *M. pernicioso*

$$\% \text{ Incidencia: } \frac{\text{Nro. de plantas afectadas} \times 100}{\text{Nro. de plantas evaluadas}}$$

9.4.4 Técnicas de procesamiento y análisis de la información.

Los resultados del porcentaje de incidencia serán ordenados según distritos, manejo de la plantación, área productiva y ecotipos evaluados y se realizarán análisis multivariados, para lo cual al momento de la evaluación se aplicará una encuesta donde se solicite información relevante a la producción del cacao

9.5 RESISTENCIA A *M. pernicioso* (Stahel) Aime & Phillips –Mora DE 42 CLONES DE CACAO CHUNCHO DEL JARDÍN CLONAL DEL CAT SAHUAYACO.

9.5.1 Ámbito temporal y geográfico del estudio.

Se realizará en el jardín clonal de Cacao Chuncho del CAT Sahuayaco, descrito anteriormente, a partir del inicio de la época de lluvias del primer año de iniciado el trabajo de investigación.

9.5.2 Diseño experimental

Dada la peculiaridad del campo experimental se utilizará el diseño completo al azar con 5 unidades experimentales (plantas) por accesión, las cuales serán analizadas mediante el ANOVA simple y la comparación de media Tukey.

9.5.3 Población y muestra.

La población total del jardín clonal es de 42 clones de cacao chuncho, provenientes de diferentes zonas de la provincia de La Convención, las cuales fueron seleccionadas por sus características positivas como resistencia a enfermedades o alta productividad.

La muestra consistirá en cinco plantas de las siete que constituyen una accesión, elegidas por su mayor vigor y tamaño.

9.5.4 Técnicas e instrumentos de colecta de datos.

Se utilizará las mismas técnicas de inoculación y evaluación usadas en la fase de evaluación de patogenicidad y virulencia de *M. pernicioso* para los 42 clones de cacao chuncho del jardín clonal del CAT Sahuayaco, la diferencia con la evaluación de patogenicidad radica en que en patogenicidad se inoculará plántulas producidas de semilla de clones susceptibles en cambio en la resistencia se evalúan a todas las accesiones y en campo definitivo que fueron inoculadas con la cepa más virulenta en dosis 3 ml de suspensión de basidiosporas asperjada sobre hojas tiernas y cojines florales de las plantas seleccionadas.

9.5.5 Técnicas de procesamiento y análisis de la información.

A los 60 días después de la inoculación se registrarán datos para determinar el grado de resistencia de los 42 clones de cacao chuncho del jardín clonal del CAT Sahuayaco. Al mismo tiempo de la evaluación de resistencia se confeccionará el ciclo de *M. pernicioso* (Stahel) Aime & Phillips –Mora en condiciones de Sahuayaco-Cusco

VARIABLES A EVALUAR:

- Número de escobas y primordios a los 30, 60, 90, 120, 150 y 180 días de inoculado.
- Peso de las escobas secas
- Longitud y diámetro de la base de las escobas.
- Número de días de escoba verde.
- Número de días de escoba seca y de inicio de producción de basidiocarpos en forma natural.
- Temperatura y humedad relativa diaria.

9.6 DETERMINAR METODOLOGÍAS DE CONTROL EFICIENTES DE *M. pernicioso* (Stahel) Aime & Phillips –Mora EN CACAO.

9.6.1 Ámbito temporal y geográfico del estudio.

Se realizará en el distrito de Echarate, sector de Cocabambilla ubicado a una altitud de 900 msnm y presenta una temperatura media de 26 °C, con una precipitación entre 1100 y 1300 mm/año.

El Estudio se iniciará a partir del cuarto mes de iniciado el trabajo de investigación.

9.6.2 Diseño experimental

Se utilizará el diseño completo al azar de 12 tratamientos y dos réplicas, las cuales serán analizadas mediante el ANOVA simple y la comparación de media Tukey.

9.6.3 Población y muestra.

El área experimental será una parcela de cacao con plantación uniforme de 7 años de edad de clones no resistentes a escoba de bruja, en donde se diseñará el experimento considerando parcela neta de 8 plantas, 16 plantas de borde y calles de 6 metros de ancho.

9.6.4 Técnicas e instrumentos de colecta de datos.

Tratamientos: Podas: Tres tipos de poda (poda quincenal, poda mensual, poda semestral),
Fungicidas: Bayleton 250 y Silvacur 300 y testigo absoluto.

Tabla 1. Fungicidas y sus características

Nombre comercial	Nombre común	Form	Modo de acción
Bayleton 250	Triadimefon	CE	Sistémico
Silvacur 300	Tebuconazole + Triadimenol	EC	Sistémico / Contacto

Tabla 2. Detalle de los tratamientos

Tratamientos		Dosis	Frec (días)	No. Aplic
No	Productos	lt/ ha		
1	Testigo Absoluto	—	—	—
2	Poda quincenal			
3	Poda mensual			
4	Poda semestral			
5	Poda quincenal + Bayleton 250	0.5	22	7
6	Poda mensual+ Bayleton 250	0.5	22	7
7	Poda semestral+ Bayleton 250	0.5	22	7
8	Poda quincenal + Silvacur 300	1	22	7
9	Poda mensual Silvacur 300	1	22	7
10	Poda semestral Silvacur 300	1	22	7
11	Bayleton 250	0.5	22	7
12	Silvacur 300	1	22	7

Preparación de parcela:

En las parcelas experimentales se eliminarán todos los frutos, brotes y hojas afectados por escoba, posteriormente se inoculará con basidiosporas provenientes de campos adyacentes producidos en forma natural.

Aplicación de los tratamientos: A los 15 días se procede a aplicar los tratamientos.

Variables a evaluar:

- Número de escobas por mes,
- Tamaño de las escobas secas,
- Número de frutos afectados por mes,
- Número de cojines florales afectados
- Número de mazorcas maduras sanas e infectadas por *M. pernicioso* por semana, a fin de obtener el porcentaje de incidencia y grado de severidad de la enfermedad, estas mazorcas serán removidas y sacadas de la plantación.
- Peso de almendras secas provenientes de mazorcas sanas y de las enfermas como de segunda clase.

9.6.5 Técnicas de procesamiento y análisis de la información

Los resultados al cabo de 200 días serán procesados mediante el paquete estadístico Minitab donde se realizará un ANOVA simple y la comparación de medias.

9.7 TRANSFERENCIA DE TECNOLOGÍA DE CONTROL DE ESCOBA DE BRUJA A AGRICULTORES.

9.7.1 Ámbito temporal y geográfico del estudio.

Se realizará en el distrito de Echarate, en la cuenca Alta y Media del río Urubamba, es decir se encuentra ubicado entre el río ROSARIO MAYO y el PONGO DE MAINIQUE, con un área total de 8,168.23 km² y una población de 56,585 habitantes, de los cuales se calcula unos 2000 unidades agropecuarias que producen cacao que en la actualidad practican dos podas sanitarias anuales, remoción de frutos afectados y quedan en el suelo, disminución de sombra, rehabilitación de plantaciones antiguas y muy pocos casos aplican control químico, en cuanto al control genético se recomienda y se siembra cacao CCN- 51 que se considera como tolerante pero que el principal objetivo de su frecuencia es el alto potencial productivo.

El trabajo se iniciará a partir del décimo cuarto mes de iniciado el trabajo de investigación.

9.7.2 **Diseño experimental:** Esta fase no contará con diseño experimental.

9.7.3 **Población y muestra.**

La población beneficiaria serán los agricultores organizados que producen cacao en la provincia de La Convención. De los agricultores capacitados se seleccionará al azar una muestra representativa utilizando la metodología propuesta por Valdez (1983).

9.7.4 **Técnicas e instrumentos de transferencia**

Coordinación con agricultores cacaotaleros

Al cuarto mes se realizará la coordinación con instituciones como cooperativas, asociaciones y Municipios que trabajen en el cultivo de cacao, con quienes se elaborará un cronograma para las capacitaciones y entrega de material de extensión.

Producción de material de extensión

Una vez que se consolide la información sobre la diversidad genética del cacao chuncho y su resistencia a escoba, la patogenicidad y virulencia de los aislados y de los métodos más eficientes y económicos de control de la escoba obtenidos de la investigación anterior se procederá a publicar los resultados en revistas científicas indexadas, así mismo se elaborarán manuales de fácil lectura y comprensión para los agricultores, técnicos y estudiantes beneficiarios.

Transferencia de tecnología

El método escogido para otorgar la información será la de campesino a campesino donde se realizará seis (06) cursos a los agricultores líderes en las instalaciones de la EET Sahuayaco y en la UNIQ en Quillabamba para que estos a su vez puedan replicar en sus comunidades en cursos organizados por el presente proyecto y se le acompañará hasta lograr una adopción de por lo menos 80%.

Evaluación de la innovación:

A cada productor se le presentará el cuadro de innovaciones donde se detalla las prácticas más usuales para el control de enfermedades e incremento de rendimiento (Tabla 03) y se le solicitará que marque las actividades que realiza y las que incorporaría en el manejo de su cacaotal. Se calculará el porcentaje (promedio y desviación estándar) de productores que adoptarían cada recomendación. Las innovaciones se agruparán con base en el porcentaje de adopción en categorías de baja ($\leq 50\%$), media (51-80%) y alta (81-100).

Tabla 03: Adopción del manejo integrado del cacao y sus enfermedades

DESCRIPCION	ZONAS						ADOPCION (%)		% VARIACION (b - a)
	ECH	PR	KIT	TIN	SAN	KEP	2019 a	2020 b	
Prácticas culturales									
Prácticas fitosanitarias									
Control Químico									
Manejo genético									
Manejo Post cosecha									
Podas de sombra									
ADOPCION Prom. (%)									

9.7.5 Técnicas de procesamiento y análisis de la información

Se realizarán observaciones y registros de las capacitaciones, de la adopción de la tecnología y de la efectividad del método de capacitación mediante evaluaciones orales y escritas antes y después de las capacitaciones y en las visitas a las fincas.

Los datos se analizarán con hojas Excel y con programa de *software* SPSS para Windows, Se utilizará el modelo Logit, que se basa en la función de probabilidad logística acumulativa.

		CRONOGRAMA DEL PROYECTO:																											
		RESISTENCIA DE CLONES DE CACAO CHUNCHO A <i>Moniliophthora perniciosa</i> Y CONTROL DE ESCOBA DE BRUJA EN LA CONVENCION																											
OBJETIVO	ACTIVIDADES	MESES																											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26		
Trabajos preliminares		Implementación de Laboratorio de Fitopatología y Biotecnología																											
Ejecución del proyecto		Contratación y capacitación de asistentes de campo y auxiliar de laboratorio																											
1	Caracterizar morfológica y molecularmente clones de cacao Chuncho procedente de la provincia de La Convención.	Formulación de proyecto de tesis 1																											
		Caracterización morfológica en campo																											
		Capacitación de equipo de investigación en procesos moleculares de diversidad genética.																											
		Recolección de material vegetal																											
		Extracción de ADN																											
		Caracterización morfológica en laboratorio de la UNIQ																											
		Procesamiento de datos																											
2	Validar y estandarizar una metodología eficiente que permita la producción de basidiocarpos en medios artificiales.	Participación en Congreso nacional e internacional																											
		Capacitación de equipo de investigación en producción de basidiocarpos en medios artificiales.																											
		Recolección de basidiocarpos y material infestado de campo																											
		Ensayos preliminares de efectividad de medios de cultivo																											
		Producción de basidiocarpos																											
3	Determinar la patogenicidad y virulencia de <i>M. perniciosa</i> en cacao.	Procesamiento de datos																											
		Formulación de proyecto de tesis 2																											
		Selección de clones de cacao susceptibles a <i>M. perniciosa</i>																											
		Aislamiento del patógeno																											
		Construcción de vivero de cacao susceptible en UNIQ																											
		Producción de plantas en vivero en UNIQ																											
		Aplicación del inoculo a las plantas																											
4	Determinar los niveles de resistencia de 42 clones de cacao chuncho del jardín clonal de Sahuayaco a <i>M. perniciosa</i> .	Incubación de las plantas																											
		Evaluación y procesamiento de datos																											
		Preparación de las plantas en campo																											
		Análisis de suelo de jardín clonal de cacao chuncho.																											
		Producción de basidiocarpos de <i>M. perniciosa</i>																											
5	Determinar áreas de mayor incidencia de <i>M. perniciosa</i> en cacao de la provincia de La Convención.	Inoculación del patógeno																											
		Evaluación de los tratamientos																											
		Determinación de resistencia del cacao chuncho																											
		Formulación de proyecto de tesis 3																											
		Reconocimiento de áreas productoras de cacao a nivel provincial																											
		Diseño del muestreo y determinación de la muestra																											
		Evaluación de unidades productivas																											
6	Determinar metodologías de control eficientes de <i>M. perniciosa</i> Singer en cacao.	Mapeo epidemiológico de <i>M. perniciosa</i> de La Convención																											
		Procesamiento de datos																											
		Formulación de proyecto de tesis 4																											
		Determinación de áreas experimentales																											
		Preparación de las plantas en campo																											
7	Transferir la tecnología lograda a agricultores cacaoteros de la Provincia de La Convención.	Inoculación natural del patógeno																											
		Aplicación de técnicas de control																											
		Evaluación de los tratamientos																											
		Procesamiento de datos																											
		Coordinación con agricultores cacaoteros																											
Trabajos finales		Producción de material de extensión																											
		Transferencia de tecnología																											
		Evaluación de la transferencia de tecnología																											
		Publicación de libro sobre Escoba de bruja en Cusco																											
		Publicación en revista científica																											
		Informe físico y financiero																											
		Traspaso de bienes																											

X. PRESUPUESTO GENERAL

PRESUPUESTO POR OBJETIVOS

OBJ.	DETALLE DEL OBJETIVO	SUBTOTAL
	ADMINISTRACION GENERAL	S/63,724.00
1	Caracterizar morfológica y molecularmente clones de cacao Chuncho procedente de la provincia de La Convención.	S/691,065.78
2	Validar y estandarizar una metodología eficiente que permita la producción de basidiocarpos en medios artificiales.	S/435,335.24
3	Determinar la patogenicidad y virulencia de M. pernicioso en cacao.	S/88,859.24
4	Determinar los niveles de resistencia de 42 clones de cacao chuncho del jardín clonal de Sahuayaco a M. pernicioso.	S/717,246.00
5	Determinar áreas de mayor incidencia de M. pernicioso en cacao de la provincia de La Convención.	S/25,320.00
6	Determinación de metodologías de control eficientes de M. pernicioso Singer en cacao	S/24,020.25
7	Transferir la tecnología lograda a agricultores cacaotaleros de la Provincia de La Convención.	S/67,095.00
	Trabajos finales (Traspaso de bienes)	S/2,000.00
	TOTAL	S/2,114,665.50

PRESUPUESTO DISGREGADO POR ESPECIFICA DE GASTO

DESCRIPCION	SUBTOTAL	PORCENTAJE (%)
SERVICIOS DE TERCEROS	S/.344,080.72	16.27
PASAJES Y VIATICOS	S/.95,240.00	4.50
EQUIPOS Y BIENES DURADEROS	S/.1,545,620.00	73.09
SUMINISTROS	S/.129,724.78	6.14
TOTAL	S/.2,114,665.50	100.00

RESUMEN DE CUADRO DE NECESIDADES DE PROYECTO DE INVESTIGACION

PROYECTO: RESISTENCIA DE CLONES DE CACAO CHUNCHO A *Moniliophthora perniciosa* Y CONTROL DE ESCOBA DE BRUJA EN LA CONVENCION

BIENES DURADEROS	S/ 1,545,620.00
Estereoscopio con cámara	S/ 88,000.00
Agitador orbital analógico con bandeja de más de 450 x 450 mm y pinzas para matraces Erlenmeyer y gradilla para tubos	S/ 15,000.00
Agitador vortex,	S/ 5,500.00
Autoclave vertical	S/ 56,000.00
Balanza analítica de precisión	S/ 14,000.00
Balanza de humedad	S/ 7,000.00
Balanza de precisión de 2 decimales de más de 1200 g	S/ 1,500.00
Baño maría	S/ 5,700.00
Baño ultrasónico	S/ 3,000.00
Bureta digital	S/ 2,000.00
Cabina de bioseguridad tipo II	S/ 31,500.00
Cámara fotográfica de más de 24 Mp digital	S/ 5,000.00
Cámara grow profesional para laboratorio	S/ 27,500.00
Centrifuga para 4 tubos de 200 ml	S/ 18,000.00
Computadora de sobre mesa	S/ 4,500.00
Computadora personal portátil	S/ 4,200.00
Contador de colonias	S/ 18,500.00
Data logger de temperatura con entrada para 4 sensores	S/ 3,000.00
Desionizador de agua de 30 L	S/ 4,500.00
Destilador de agua 4 l	S/ 13,000.00
Destilador de agua de 4 litros con frasco recolector	S/ 15,000.00
Equipo de aire acondicionado	S/ 4,000.00
Equipo para cuantificación de ADN de especies vegetales	S/ 35,000.00
Estación meteorológica portátil y transmisión en tiempo real	S/ 5,600.00
Estufa de convección forzada	S/ 12,000.00
Estufa esterilizadora convección	S/ 13,000.00
Fotodocumentador de geles UV con cámara de 3 a 6 megapixel	S/ 65,000.00
GPS	S/ 6,600.00
GPS geodésico	S/ 4,000.00
Horno de microondas doméstico	S/ 500.00
Incubadora de convección natural	S/ 11,000.00
Interface universal	S/ 12,000.00
Jarra de anaerobiosis de 3.5 l	S/ 10,000.00
Kit de medidor multiparamétrico portátil	S/ 5,000.00
Licuada 1200 watts	S/ 5,000.00
Manta de calentamiento con agitador de 2000 ml	S/ 2,000.00
Medidor de acidez/ refractómetro digital portátil para medir brix/acidez	S/ 4,600.00

Medidor de actividad de agua	S/ 62,000.00
Medidor de humedad de hojas y suelo	S/ 20,000.00
Medidor multiparamétrico portátil	S/ 22,000.00
Micropipeta digital	S/ 8,000.00
Microscopio binocular con inmunofluorescencia	S/ 61,000.00
Microscopio óptico	S/ 24,000.00
Microscopio óptico con cámara	S/ 55,000.00
Motocicleta chacarera de 200 cc	S/ 17,000.00
Mufla	S/ 14,000.00
Ph metro de mesa	S/ 11,400.00
Ph metro para suelos	S/ 3,000.00
Ph metro portátil tipo lapicero	S/ 720.00
Proyector multimedia interactivo	S/ 5,000.00
Refractómetro digital portátil	S/ 3,500.00
Refrigerador de laboratorio de 350 l.	S/ 33,400.00
Refrigerador domestica de 600 litros no frost	S/ 2,500.00
Refrigeradora de 350 Litros	S/ 1,200.00
Sistema de electroforesis minigel	S/ 24,500.00
Stomacher (homogeneizador de muestras) 400 ml	S/ 50,000.00
Tablets digitales (para adquisición de datos en campo)	S/ 14,000.00
Tamizador por vibración	S/ 15,000.00
Termociclador PCR	S/ 60,000.00
Termohigrómetro	S/ 1,600.00
Termómetro digital	S/ 1,600.00
Test de jarras	S/ 30,000.00
Ultracongeladora -86°C de 96 l	S/ 85,000.00
Vernier/calibrador digital (4 unidades)	S/ 2,000.00
Analizador de actividad de agua y generador de curvas de sorción y desorción	S/ 345,000.00
Aparato de microfiltración (cilndro, embudo, tizereta y kitasato de 1000 ml y bomba de vacío)	S/ 3,000.00
Fotocolorímetro (escalas de color lab)	S/ 28,000.00
Impresora a tinta de colores	S/ 700.00
Impresora láser con tóner	S/ 800.00
Sensor meteorológico con sistema de transmisión de datos	S/ 3,000.00
SERVICIOS	S/ 344,080.72
Auxiliar técnico de laboratorio 2	S/ 27,580.00
Auxiliar de campo	S/ 39,327.72
Auxiliar técnico de laboratorio 1	S/ 85,800.00
Apoyo a estudiantes tesistas (Subvención)	S/ 9,000.00
Análisis de suelos	S/ 240.00
Capacitación en análisis molecular (ADN) a todo costo de especialista extranjero	S/ 12,000.00
Capacitación en extracción de ADN y análisis molecular a todo costo	S/ 40,000.00
Capacitación especializada en patogenicidad	S/ 3,000.00
Consultoría Especializada	S/ 20,000.00
Consultoría Especializada en Extensión y transferencia de tecnología	S/ 8,000.00

Contabilidad y administración del proyecto	S/	24,000.00
Extracción de ADN	S/	4,000.00
Facilitador extensionista	S/	14,500.00
Identificación de agentes causales de enfermedades del cacao	S/	800.00
Impresión de boletines educativos	S/	9,000.00
Mantenimiento de motocicleta	S/	3,000.00
Otros servicios (anillados, recargas de gas)	S/	873.00
Publicación de artículo científico	S/	10,500.00
Publicación en revista científica	S/	10,500.00
Servicios postales	S/	200.00
Servicios varios	S/	360.00
SOAT para Motocicleta	S/	1,000.00
Traducción de artículo científico al inglés	S/	3,500.00
Servicios básicos	S/	7,700.00
Presentación de proyecto de investigación (Evento con servicios todo incluido)	S/	5,000.00
Alquiler de camioneta 4x4 para extensión agrícola	S/	4,200.00
SUMINISTROS	S/	129,724.78
Combustible y carburantes	S/	12,565.00
Equipo de protección personal	S/	3,945.00
Fertilizantes	S/	6,996.00
Materiales de aseo	S/	1,500.00
Materiales de escritorio	S/	6,776.00
Materiales de laboratorio	S/	39,765.78
Materiales de oficina	S/	1,340.00
Reactivos	S/	22,087.00
Semillas de Cacao	S/	100.00
Software de simulación	S/	5,000.00
Materiales de agricultura	S/	29,650.00
PASAJES Y VIATICOS	S/	95,240.00
Alimentación de otros miembros de equipo de investigación	S/	1,470.00
Alimentación local del equipo investigador	S/	27,600.00
Alimentación local de tesistas	S/	1,620.00
Alimentación rural de participantes de los eventos de capacitación	S/	800.00
Hospedaje	S/	1,440.00
Pasajes locales del equipo investigador	S/	13,830.00
Pasajes nacionales del equipo investigador	S/	22,500.00
Pasajes internacionales del equipo investigador	S/	15,000.00
Refrigerios para participantes en eventos de transferencia tecnológica	S/	4,000.00
Viáticos integrantes	S/	1,600.00
Viáticos responsables	S/	5,380.00
PRESUPUESTO TOTAL	S/	2,114,665.50

XI. MATRIZ DE CONSISTENCIA

RESISTENCIA DE CLONES DE CACAO CHUNCHO A *Moniliophthora perniciosa* Y CONTROL DE ESCOBA DE BRUJA EN LA CONVENCION

Institución ejecutora. Universidad nacional Intercultural de Quillabamba

- Área de Investigación: AGROPECUARIA Y AGROINDUSTRIAL. LINEA: SANIDAD VEGETAL
- Código Unesco: 241709 FITOPATOLOGIA
- Lugar y fecha: Quillabamba, Cusco, 01 de octubre del 2019.

	PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	JUSTIFICACION	HIPOTESIS	VARIABLES
	Desconocimiento del nivel de resistencia de los 42 clones de cacao chuncho a escoba de bruja y insuficiente información científica y tecnológica en el control de escoba de bruja <i>Moniliophthora perniciosa</i> (Stahel) Aime & Philips-Mora del Cacao en la provincia de La Convención	Determinar la resistencia de 42 clones de cacao chuncho a <i>Moniliophthora perniciosa</i> e innovar en el control de escoba de bruja en La Convención.	El cacao chuncho es un material genético muy valioso en cuanto a calidad, por lo que es necesario incentivar su cultivo, sin embargo muchas de estas plantas presentan alta incidencia de plagas y enfermedades por lo que es necesario encontrar material que presente algún nivel de resistencia. A consecuencia del desconocimiento de científico y tecnológico de las técnicas de control de escoba de bruja en el Cusco se tiene una reducción del rendimiento en un 8% anual.	Existe clones de cacao chuncho resistente a <i>Moniliophthora perniciosa</i> (Stahel) Aime & Phillips y la innovación en los métodos de control “escoba de bruja” permitirá una reducción del ataque del hongo causante de la enfermedad.	
	PROBLEMAS ESPECIFICOS	OBJETIVOS ESPECIFICOS	JUSTIFICACIONES	HIPOTESIS	
1	Inadecuada caracterización morfológica y molecular de clones de Cacao Chuncho procedente de la provincia de La Convención.	Caracterizar morfológica y molecularmente clones de cacao Chuncho procedente de la provincia de La Convención.	La determinación de la variación genética de las poblaciones de <i>Theobroma cacao</i> en la Amazonía peruana tiene importancia en el programa de mejoramiento del cacao, buscando resistencia a la escoba de bruja. , los nuevos cultivares son necesarios para proporcionar una base más amplia de resistencia a enfermedades devastadoras como la enfermedad de escoba de bruja	Existen diferencias morfológicas y moleculares en clones de cacao Chuncho procedente de la provincia de La Convención.	<ul style="list-style-type: none"> • Características morfológicas del fruto. • Polimorfismo del cacao chuncho
2	Desconocimiento de metodologías eficientes que permitan la	Validar y estandarizar una metodología eficiente que permita la producción de	Un factor limitante en la realización de trabajo de investigación con este patógeno, es la poca disponibilidad de	Los basidiocarpos se pueden obtener en medios artificiales basados en agar.	<ul style="list-style-type: none"> • Número de basidiocarpos por medio de cultivo.

	producción de basidiocarpos en medios artificiales.	basidiocarpos en medios artificiales	inoculo infectivo en el campo. El producir basidiocarpos de <i>M. pernicioso</i> , en el medio artificial permitirá disponer de forma permanente del inoculo, indispensable para desarrollar pruebas de patogenicidad, pruebas de resistencia en genotipos, estudios de biología y ensayos de antagonismo		<ul style="list-style-type: none"> • Tamaño de basidiocarpos. • Tiempo de producción de basidiocarpos.
3	Desconocimiento de la patogenicidad y virulencia de <i>M. pernicioso</i> en Cacao.	Determinar la patogenicidad y virulencia de <i>M. pernicioso</i> en cacao.	Para realizar un control adecuado de la enfermedad se tiene que conocer la capacidad de ataque en relación al tiempo en la que se presentan los síntomas del hongo en las plantas de cacao.	Existen diferencias entre los diferentes aislados de diferentes zonas productoras en cuanto a patogenicidad y virulencia de <i>M. pernicioso</i> en cacao.	<ul style="list-style-type: none"> • Número de cepas de escoba de bruja. • Número de Escobas y primordios por mes. • Incidencia de escoba
4	Desconocimiento de los niveles de resistencia a <i>M. pernicioso</i> de 42 clones de cacao chuncho del jardín clonal de Sahuayaco- La Convención.	Determinar los niveles de resistencia a <i>M. pernicioso</i> de 42 clones de cacao chuncho del jardín clonal de Sahuayaco- La Convención	En la actualidad en nuestra provincia se han introducido se ha realizado una colección de clones de cacao Chuncho pero que no se determinó los niveles de resistencia de estos clones al ataque de escoba de bruja.	De los 42 clones de cacao chuncho del jardín clonal de Sahuayaco- La Convención, existen algunos que presentan niveles de resistencia a la Escoba de bruja.	<ul style="list-style-type: none"> • Número de Escobas y primordios por mes. • Incidencia de escoba • Severidad de síntomas internos y externos de frutos.
5	Desconocimiento de las áreas de mayor incidencia de <i>M. pernicioso</i> en Cacao de la Provincia de La Convención.	Determinar áreas de mayor incidencia de <i>M. pernicioso</i> en cacao de la provincia de La Convención.	Como la provincia de la Convención es extensa y con muchas variaciones en cuanto a la topografía, altitud, zonas de vida no se tiene delimitada las áreas en la cuales el ataque de la escoba de bruja es mayor.	Existen zonas productoras de cacao de la provincia de La Convención que presentan alta incidencia de <i>M. pernicioso</i> .	<ul style="list-style-type: none"> • Incidencia de la enfermedad por sectores y variedades de cacao. • Severidad por variedades. • Número de zonas productoras con alto índice de producción y de enfermedad de escoba.
6	Desconocimiento de metodologías de control eficientes de <i>M. pernicioso</i> Singer en cacao.	Determinar metodologías de control eficientes de <i>M. pernicioso</i> Singer en cacao.	En el Perú no se tiene una metodología definida para el control de la escoba de bruja eficiente porque no se tiene un programa nacional de control de escoba de bruja como lo tienen otras	Existen métodos de control eficiente y económico para <i>M. pernicioso</i> .	<ul style="list-style-type: none"> • Incidencia y severidad de síntomas. • Número de frutos afectados y sanos.

			enfermedades tal es el caso mosca de la fruta.		
7	Deficiente capacidad de transferencia de tecnología para el control de escoba de bruja <i>M. pernicioso</i> a los agricultores cacaotaleros de la Provincia de La Convención	Transferir la tecnología lograda a agricultores cacaotaleros de la Provincia de La Convención.	En la actualidad en la provincia de La Convención existen proyectos de capacitación y asistencia técnica en el cultivo de cacao pero no especifica en el control de escoba de bruja y las metodologías que se utilizan para la transferencia de tecnología no tienen un efecto relevante en el manejo de la enfermedad.	La transferencia de la tecnología lograda a agricultores cacaotaleros permitirá elevar los rendimientos, la calidad del grano seco y mantener la biodiversidad del cacao.	<ul style="list-style-type: none"> • Porcentaje de adopción de tecnologías tradicionales. • Porcentaje de adopción de innovaciones propuestas por el proyecto por zonas y tipos de actividades

XII. BIBLIOGRAFIA

- Aime, M. C. and W. Phillips-Mora (2005). The causal agents of witches' broom and frosty pod rot of cacao (chocolate, *Theobroma cacao*) form a new lineage of Marasmiaceae. *Mycologia* 97(5): 1012-22.
- Almeida, NE; Galloway, G; Current, D; Lok, R; Prins, C. 1999. Adopción de prácticas agroforestales en el Municipio de San Juan Opico, El Salvador. (en línea). Consultado 25 oct. 2004. Disponible en <http://web.catie.cr/informacion/RAFA/rev23/nevera1.htm#introducción>. (Informe Técnico-Financiero, 11).
- Amartey, S; Humar, M; Pohleven, F. 2003. Growth of selected wood decay fungi on various agar- supplemented media. The International Research Group of Wood Preservation, 34 Annual Meeting. Brisbane, , 18-23 May.
- Aranzazu, F. 2000. Escoba de bruja en Colombia, su impacto económico y manejo. En Mejia L, A, Argüello, O. eds. Tecnología para el mejoramiento del sistema de producción de cacao. Bucaramanga, Colombia. CORPOICA, p 85-90.
- BAKER, R. E. H., P. (1957). Witches' broom disease of cocoa (*Marasmius perniciosus* Stahel). *Phytopathological paper*. Commonwealth Mycological Institute, Kew.(2): 42pp.
- BARTLEY, B. G. D. (1986). Cacao, *Theobroma cacao*. In: Breeding for durable resistance in perennial crops. *Plant Production Papers*, 70. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome: 25-42.
- BARTLEY, B.G.D. A review of cacao improvement. Fundamental methods and results. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON COCOA BREEDING STRATEGIES, Kuala Lumpur, 1994. **Proceedings**. Kuala Lumpur, 1994. p.16.
- BARTLEY, B.G.D. Status of genetic resistance in cacao to *Crinipellis perniciosus* (Stahel) Singer. In: INTERNATIONAL COCOA RESEARCH CONFERENCE, Lagos, 1981. **Proceedings**. Lagos: Cocoa Producers' Alliance, 1981. p.57-69.
- BASTOS, C. N. (1996a). Mycoparasitic nature of the antagonism between *Trichoderma viride* and *Crinipellis perniciosus*. *Fitopatologia Brasileira* 21(1): 50-54.
- BASTOS, C. N. (1996b). Potential of *Trichoderma viride* for the control of cocoa witches' broom (*Crinipellis perniciosus*). *Fitopatologia Brasileira* 21(1): 50-54.
- BASTOS, C. N. and H. C. Evans (1985). A New Pathotype of *Crinipellis perniciosus* (Witches Broom Disease) on Solanaceous Hosts. *Plant Pathology* 34(2): 306-312.
- BECKMAN, J.S. 1991. Genomic genetics and plant genetic improvement In: Gene-mapping techniques and applications Schook, L. b.; Lewin, H. A. & McLaren D.G. (Eds.) Marcel Dekker Inc., New York pp 201-230.
- BRAUDEAU, J. 1970. "El Cacao". Colección Agricultura Tropical. Editorial Blume. Barcelona-España. 292 p.
- Correa, A. 1983. Prueba de medios de cultivos artificiales para la fructificación de *Crinipellis perniciosus*. Universidad de Caldas. Facultad de Agronomía. Manizales.

- De Arruda, M. C., G. F. Sepulveda, et al. (2005). *Crinipellis brasiliensis*, a new species based on morphological and molecular data. *Mycologia* 97(6): 1348-61.
- De Marco, J. L., Vladares, M. C & Felix, C. R. (2003). Production of hydrolytic enzymes by trichoderma isolates with antagonistic activity against *Crinipellis pernicioso*, the causal agent of witches broom of cocoa. *Brazilian Journal of Microbiology* 34: 33-38.
- Delgado, J. C. and A. A. Cook (1976). Nuclear Condition of Basidia, Basidiospores, and Mycelium of *Marasmius perniciosus*. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique* 54(1-2): 66-72.
- DEVIDA (2004), "Cacao, Paquete tecnológico para el valle del Río Apurímac y Ene. Comisión Nacional para el Desarrollo y Vida sin Drogas – DEVIDA.CICAD / OAS. Perú. 111 p.
- Díaz, C. P. (2010). Manual práctico del Cacaotero. Municipalidad Distrital de Echarate. Cusco. Perú. 119 p.
- Evans, H. C. (1977). The occurrence of pathotypes of *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer in the tropical forest ecosystem. Proceedings of the 6th International Cocoa Research Conference, Caracas, Venezuela. Cocoa Producers Alliance, Lagos, Nigeria.: 166-170.
- Evans, H. C. (1978). Witches' broom disease of cocoa (*Crinipellis pernicioso*) in Ecuador. The fungus. *Ann. Appl. Biol* 89(2): 185-192.
- Evans, H. C. (1980). Pleomorphism in *Crinipellis pernicioso*, Causal Agent of Witches Broom Disease of Cocoa. *Transactions of the British Mycological Society* 74(JUN): 515-523.
- Evans, H. C. B., C. N (1979). Uma reavaliação do ciclo de vida da vassoura de bruxa (*Crinipellis pernicioso*) do cacau. *Fitopatologia Brasileira* 4: 104.
- Griffith, G y Hedger, J. N. 1993. A novel method for producing basidiocarps of cocoa pathogen *Crinipellis pernicioso* using bran-veemiculite medium. *Neth, J. Plant pathology* 99: 227, 230.
- Griffith, G. W. and J. N. Hedger (1994a). The Breeding Biology of Biotypes of the Witches-Broom Pathogen of Cocoa, *Crinipellis pernicioso*. *Heredity* 72: 278-289.
- Griffith, G. W. and J. N. Hedger (1994b). Dual Culture of *Crinipellis pernicioso* and Potato Callus. *European Journal of Plant Pathology* 100(6): 371-379.
- Griffith, G. W., J. Nicholson, et al. (2003). Witches' brooms and frosty pods: two major pathogens of cacao. *New Zealand Journal of Botany* 41(3): 423-435.
- HARDY F. 1958. "Cacao soils". *Proc. Of the soil and crop Science Societi of Florida*. 18, 75-87. EUA.
- HARDY F. 1961, *Manual de Cacao*, Instituto Interamericano de Ciencia Agrícola, Turrialba, Costa Rica, Página del 137 al 185.
- ICT, 2004. "CACAO, Manejo integrado del cultivo y Transferencia de Tecnología en la Amazonía Peruana". Instituto de Cultivos Tropicales. 184 p. Tarapoto – Perú.
- Illanes, P. 1995. Adopción de tecnología en la producción lechera: estudio de caso de la comunidad San José Llanga. Tesis Lic. Economía. La Paz, BO, Universidad Mayor de San Andrés. 80 p.
- Laker, H. R., S. A. (1989). A review of the research on chemical control of witches' broom disease of cocoa. *Cocoa Growers' Bulletin* 42: 5-16.
- Merchán, V.M. 1980. Formación en medios de cultivo de basidiocarpos de *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer. *El cacaotero colombiano*. 12:32, 34.

- Niella, G. R; Resende. M. L; Castro, H. A & Silva, L. H. 1999. Improved methodology for artificial production of basidiocarpos by *Crinipellis perniciosus*. *Fitopatologia brasileira*. 24:523, 52
- Oliveira, J. E. H., K (1999). Determinação de dosagens efetivas de tebuconazole na redução de alguns sintomas associados à vssoura-de-bruxa do cacauero. In Informe Técnico 1992-1997, CEPEC/CEPLAC, Ilhéus, Brasil.
- Pereira, J. L. (2000). Management of Witches' Broom disease of cocoa: a contemporary retrospective. Cocoa Producers' Alliance, Lagos, Nigeria: 41p.
- Pound, F.J. Cacao and witches' broom disease (*Marasmius perniciosus*): report on a recent visit to the Amazon territory of Peru. In: RHODES, A.L. (Ed.). **Cacao agronomist**. Port of Spain: Government Printer, Department of Agriculture, 1943. 14p.
- Purdy, L. H; SCHMIDT, R. A. 1996. Status of Cacao Witches' Broom: Biology, Epidemiology, and Management. *Annual Review of Phytopathology*. V. 34. p 573-594.
- Ríos-Ruiz, R.A. Manejo de enfermedades en cacao y café en Tingo Maria. Tingo Maria: OSP/PNUD, 1989. 89p. (Relatório de Consultoria).
- Rodríguez C. 2008. "Resumen de registro de las principales características de la colección de cacao chuncho en La Convención-Cusco-Perú". SENASA-MINAG. Cusco-Perú.
- RUBINI, M. R., Silva-Ribeiro, R. T., Pomella, A. W. B., Maki, C. S., Araújo, W. L., dos Santos, D. R., & Azevedo, J. L. (2005). Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis perniciosus*, causal agent of Witches' Broom Disease. *Int. J. Biol. Sci.* 1(1): 24-33.
- SANOGO, S., Pomella, A., Hebbbar, P. K., Bailey, B., Costa, J. C. B., Samuels, G. J.
- SILVA, S.D.V.M.; LUZ, E.D.M.N.; ALMEIDA, O.C.; GRAMACHO, K.P.; BEZERRA, J.L. Redescricao da sintomatologia causada por *Crinipellis perniciosus* em cacaueros. **Agrotropica**, v.14, p.1-24, 2002.
- SINGER, R. (1942). A monographic study of the genera "Crinipellis" and "Chaetocalathus.". *Lilloa* 8: 441-534.
- STAHEL, G. (1915). *Marasmius perniciosus* nov. spec. Dept Landbouw in Suriname Bull 33: 1-27.
- SUÁREZ, C. 2006. ESCOBA DE BRUJA: LA EXPERIENCIA DE ECUADOR- INIAP/Ecuador. Memorias del Taller Regional Andino De Aplicación Tecnológica En El Cultivo De Cacao. Quevedo - Ecuador. Pagina del 30 al 35.
- TANSLEY, S.D.& ORTON T.J. 1983- Isozymes in planr genetics and breeding (parts A&b) Elsevier Science Publisher, Amsterdam.
- URQUHART D. H. 1963. "Cacao". Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA. Turrialba-Costa Rica. 239 p.
- Valdez Rojas OA. 1983. Factores que influyen en la adopción de tecnología agropecuaria en el Altiplano Norte. Tesis Ing. Agr. Cochabamba, BO, Universidad Mayor de San Simón. 75 p.
- Went, F. A. F. C. 1904. Witches' broom disease in various types of cacao in Surinam. *Verhandelingen der Koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam, Afdeling Natuurkunde* 10(3): 40 pp

- Wheeler, B. E. J. and C. Suarez (1993). The Pathosystem. Disease Management in Cocoa: Comparative Epidemiology of Whitches' Broom. S. A. Rudgardet al. London, Chapman & Hall: 9-19.
- Wheeler, B. E. J. M., R. (1988). Pathogenic variability amongst isolates of *Crinipellis pernicios* from cocoa (*Theobroma cacao*). Plant Pathology 37(4): 475-488.
- Wood, G. A. R. L., R. A (1985). Cocoa. 4th ed. Longman Group Limited, New York.

ANEXOS

- 1. PANEL FOTOGRAFICO**
- 2. MARCO NORMATIVO DE PRIORIZACION DE LA INVESTIGACION**

ANEXO 01:
PANEL FOTOGRAFICO

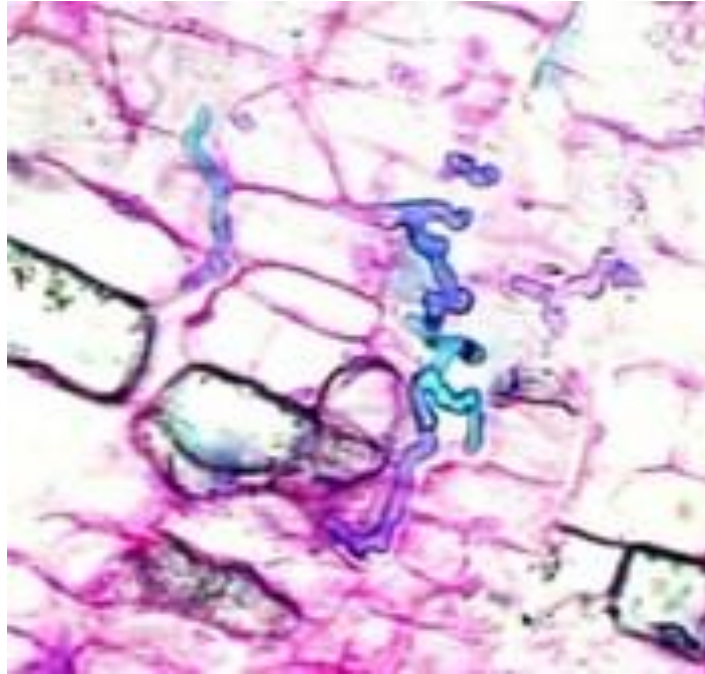


Foto01: Crecimiento micelial de C. Perniciosa



Foto02: Síntomas en fruto, necrosamiento y mancha negra.



Foto03: Escoba vegetativa en fase biotrófica



Foto04: Signo de la escoba: Basidiocarpos sobre escoba seca

MARCO NORMATIVO DE PRIORIZACION DE LA INVESTIGACION:

- I. POR LA LEY DEL CANON: SANIDAD AGROPECUARIA
- II. POR EL PLAN ESTRATÉGICO NACIONAL DE DESARROLLO EN CTI:
AGROPECUARIO Y AGROINDUSTRIAL: FIBRAS NATURALES, FRUTAS, HORTALIZAS, METABOLITOS DE PLANTAS Y MICROORGANISMOS PARA USOS MEDICINALES E INDUSTRIALES, MEJORAMIENTO GENÉTICO CON BIOTECNOLOGÍAS, PRODUCCIÓN ORGÁNICA, SANIDAD VEGETAL Y ANIMAL, RECUPERACIÓN DE SUELOS.
- III. PLAN ESTRATÉGICO DE DESARROLLO DE LA REGIÓN CUSCO:
DESARROLLO DEL SECTOR AGRÍCOLA Y PRESERVACIÓN DE LA BIODIVERSIDAD GENÉTICA.
- IV. LINEAS DE INVESTIGACION DE LA UNIQ:
Líneas de Investigación Institucionales:
“Desarrollo sustentable del cacao”