

**EVALUACION IN VITRO DE ACEITES ESENCIALES PARA EL CONTROL DE
PATOGENOS EN *Theobroma cacao* L EN LA VEREDA LA ESPERANZA,
NORTE DE SANTANDER**

PAOLA ANDREA CAMPIÑO ROSERO

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA
PAMPLONA
2018**

**EVALUACION IN VITRO DE ACEITES ESENCIALES PARA EL CONTROL DE
PATOGENOS EN Theobroma cacao L EN LA VEREDA LA ESPERANZA,
NORTE DE SANTANDER**

PAOLA ANDREA CAMPIÑO ROSERO

**TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR AL
TÍTULO DE MICROBIÓLOGA**

Director

Raquel Amanda Villamizar Gallardo, MSc. PhD.

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA
PAMPLONA
2018**

Nota de aceptación:

Firma del Primer Jurado

Firma del Segundo Jurado

Pamplona (Norte de Santander - Colombia), Junio 2018.

DEDICATORIA

A Dios por permitirme llegar hasta este momento tan especial de mi vida y protegerme durante todo mi camino y darme fuerzas para superar cada prueba a lo largo de mi vida. A mi ángel por que donde quiera que este sé que está orgullosa de lo que he logrado.

A mi Mami quien es la luz de mi vida, por su sacrificio y dedicación, por ser mi inspiración para culminar mi carrera profesional, sin duda alguna me ha demostrado su amor, corrigiendo mis faltas y celebrando mis triunfos en todo el trayecto de mi vida. Te amo mami!

A mi papi, por su apoyo y demostrarme que siempre podre contar con él. Te amo papi!

A mi hermano por ser el hombrecito que me ha enseñado que con mucho sacrificio las cosas se pueden lograr, eres mi orgullo.

A mi madrina Mercedes, por su apoyo y ser tan incondicional en toda esta etapa de mi vida, por su cariño y comprensión.

A mi madrina Paty, por su apoyo y cariño en cada parte de mi vida.

A mi abuela Clemencia, por ser la persona más especial que existe en el mundo, por su amor, cariño, comprensión y sabiduría.

A mi tía Ana, por estar siempre incondicional por su amor y cariño y todas las oraciones.

A toda mi familia quienes con su ayuda, cariño y comprensión han sido parte fundamental para el desarrollo de mis logros y metas.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por protegerme durante toda mi carrera y darme fuerzas para superar cada obstáculo y dificultad.

A mi familia por apoyarme cada momento, a mi tía Esther por ser tan linda y especial, a mi tía Mónica por sus consejos , a mi tía Olga por su apoyo, a mi tío Alberto , Mauricio ,Fernando por ser un ejemplo de vida, y toda la familia Rosero muchas gracias.

A mi familia Campiño en especial a mi Abuelita Chava por sus oraciones y cariño.

A mi tutora la Dra. Raquel Amanda Villamizar, por su apoyo incondicional, gracias por la oportunidad que me dio de pertenecer a su grupo de investigación, porque de ella aprendí muchas cosas como profesional y como persona. Gracias por que más que una tutora es un gran ejemplo a seguir para mi proyecto de vida.

Al grupo de Investigación de Nanotecnología y Gestión Sostenible (NANOSOST).

A mi gran amiga Laura Castellanos, porque más que una amiga es la hermana que la vida me brindo.

A todas y cada una de las personas que de una u otra forma hicieron parte de mi formación.

Tabla de contenido

INTRODUCCIÓN	11
1. OBJETIVOS.....	14
1.1. Objetivo General.....	14
1.2. Objetivos Específicos.....	14
2. JUSTIFICACIÓN.....	15
3. MARCO REFERENCIAL.....	18
3.1 MARCO TEORICO	18
3.1.1 <i>Theobroma cacao</i> L EN COLOMBIA	18
3.1.2 ENFERMEDADES DE CACAO	20
3.1.2.1 MONILIASIS (<i>Moniliophthora roreri</i>).....	21
3.1.2.1.1 Clasificación Taxonómica	21
3.1.2.1.2 Caracterización Morfológica	21
3.1.2.1.2 Dispersión y ciclo de vida	22
3.1.2.2 ENFERMEDADES POR OOMICETOS (<i>Phytophthora sp.</i>).....	23
3.1.2.2.1 Clasificación Taxonómica	23
3.1.2.2.2 Caracterización Morfológica	24
3.1.2.2.3 SUPERVIVENCIA, DISPERSION Y CICLO DE VIDA.....	25
3.1.2.2.4 <i>Phytophthora sp</i> en cultivo de cacao (Mazorca negra).....	26
3.1.3 METODOS DE CONTROL	27
3.1.3.1 Control cultural.....	27
3.1.3.2 Control químico.....	27
3.1.3.3 Control Biológico.....	28
3.1.3.4 Control Genético.....	28
3.1.3.5 Control Alternativo	29
3.1.3.5.1 Aceites esenciales	29
3.1.3.5.2 MECANISMO DE ACCION.....	30
3.1.3.5.3 APLICACIONES DE ACEITES ESENCIALES.....	31
3.1.3.5.4 Ventajas y Desventajas de Aceites esenciales.....	33
4. MARCO LEGAL	34
5. ANTECEDENTES.....	35
6. METODOLOGÍA	38
6.1 ENFOQUE.....	38

6.2 NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN	38
6.3 AREA DE ESTUDIO	38
6.4 VALORACIÓN AGROECOLÓGICA DEL CULTIVO	38
6.4.1. Recolección datos del cultivo	38
6.5 DETERMINACIÓN PORCENTAJE DE INCIDENCIA DE MONILIASIS Y MAZORCA NEGRA	38
6.6 AISLAMIENTOS Y CULTIVOS.....	39
6.6.1 CARACTERIZACIÓN MACROSCÓPICA	39
6.6.2 CARACTERIZACIÓN MICROSCÓPICA	39
6.6.3 PREPARACIÓN DE CULTIVOS.....	40
6.7 ENSAYO DE INHIBICIÓN DE ACEITES ESENCIALES.....	40
6.7.1 OBTENCION ACEITES ESENCIALES.....	40
6.7.2 EVALUACIÓN DE LOS AGENTES INHIBITORIOS	41
6.7.3 DETERMINACION DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA FUNGICIDA USANDO ACEITES ESENCIALES.....	41
7. Cronograma de actividades	42
8. RESULTADOS Y DISCUSION	43
8.1 VALORACIÓN AGROECOLÓGICA DEL CULTIVO	43
8.2 CARACTERIZACIÓN MICROSCÓPICA	45
8.2.1. <i>Moniliophthora roreri</i>	45
8.2.1.1 Velocidad de crecimiento.....	46
8.2.1.2 Forma y tipo de esporas	46
8.2.2 <i>Phytophthora sp.</i>	47
8.2.2.1 Forma y tipo de esporas	47
8.2.2.2 Velocidad de crecimiento.....	49
8.3 ENSAYO CON ACEITES ESENCIALES	49
9. CONCLUSIONES	56
10. BIBLIOGRAFIA	57
11. ANEXOS	64

TABLA DE FIGURAS

FIGURA 1. Etapas del ciclo de vida del cacao, tiempo de duración, etapas neurálgicas.	14
FIGURA 2. Ubicación de los principales países productores de cacao en grano en el mundo.....	19
FIGURA 3. Ciclo de vida de <i>M.roreri</i>	23
FIGURA 4. Ciclo de vida de <i>Phytophthora sp</i> (Oomycetes).....	25
FIGURA 5. Síntomas de moniliasis y Mazorca negra.....	41
FIGURA 6. Frecuencia de Frutos enfermos con síntomas de Moniliasis y Mazorca negra en los meses de agosto a diciembre en diversos materiales biológicos de cacao.....	44
FIGURA 7 .Porcentaje de incidencia inicial de moniliasis y mazorca negra en diferentes materiales biológicos de cacao sembrados en la Finca la Esperanza del municipio de Cúcuta, N de S.....	45
FIGURA 8. Aislamientos de <i>M.roreri</i>	46
FIGURA 9 .Crecimiento radial de <i>M.roreri</i> evaluada tras 12 días.....	47
FIGURA 10. Tipos de esporas encontrados en <i>M.roreri</i>	48
FIGURA 11. Características morfológicas del aislamiento de <i>Phytophthora sp</i> ...	49
FIGURA 12. Estructuras reproductivas de las cepas aisladas <i>Phytophthora sp</i> ...	49
FIGURA 13. Crecimiento radial de <i>Phytophthora sp</i> evaluada tras 6 días...	50

LISTA DE TABLAS

TABLA 1. Características de clones comerciales más sembrados en Colombia, propuestos por FEDECACAO.....	12
TABLA 2. Clasificación taxonómica <i>Phytophthora sp</i>	23
TABLA 3. Características de estructuras vegetativas y reproductivas asexuales y sexuales.....	24
TABLA 4. Tipo de controles <i>Moniliophthora sp</i>	28
TABLA 5. Tipo de controles <i>Phytophthora sp</i>	29
TABLA 6. Aceites esenciales provenientes de plantas y sus compuestos antimicrobianos.....	32
TABLA 7. Rango modificado de concentraciones mínimas inhibitorias para cinco aceites esenciales.....	41
TABLA 8. Concentración mínima fungicida (CMF) frente a cada Fito patógeno evaluado.....	51
TABLA 9. Concentraciones mínimas fungicidas de A1 frente a <i>M.roreri</i> y <i>Phytophthora sp</i>	52
TABLA 10. Concentraciones mínimas fungicidas de A2 frente a <i>M.roreri</i> , <i>Phytophthora sp</i>	53
TABLA 11 Concentraciones mínimas fungicidas de A3 frente a <i>M.roreri</i> , <i>Phytophthora sp</i>	54
TABLA 12. Concentraciones mínimas fungicidas de A4 frente a <i>M.roreri</i> , <i>Phytophthora sp</i>	55
TABLA 13. Concentraciones mínimas fungicidas de A5 frente a <i>M.roreri</i> , <i>Phytophthora sp</i>	56

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. Carta de permiso del propietario de la finca para la realización de toma de muestras y aplicación de los aceites	65
ANEXO 2. Convenio interinstitucional entre Unipamplona y Fedecacao por el cual fue financiado el proyecto de investigación.....	66
ANEXO 3. Socialización de resultados Encuentro de Semilleros (ENSIAL) Cucuta Norte de Santander.....	68

INTRODUCCIÓN

Los objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), permiten la adopción de medidas para poner fin a la pobreza, proteger el planeta y garantizar que todas las personas gocen de paz y tranquilidad. Por lo tanto, la producción y consumo responsables, son unos de los objetivos primordiales que estableció el programa de las naciones unidas para el desarrollo. Esto, debería involucrar los problemas ambientales, sociales y económicos, a fin de satisfacer las necesidades humanas en las presentes y futuras generaciones. En este sentido, se ha reconocido que el sector rural desempeña un papel importante en el desarrollo económico, principalmente en países en vía de desarrollo (Organización de Naciones Unidas, 2012). Para lograr un crecimiento económico y desarrollo sostenible, es urgente reducir la huella ecológica mediante un cambio en los métodos de producción y consumo de bienes y recursos. Siendo la agricultura un foco principal de estudio (Naciones Unidas, 2017).

En el noreste de Colombia, existen alrededor de 300,000 ha con potencial para la producción de cacao (*Theobroma cacao*) y solo el 30% de esta área está sembrado con este cultivo. Los rendimientos de los cultivos alcanzan cifras de tan sólo 0.2 t¹.ha⁻¹ al año, con más del 94% de las unidades de producción en fincas pequeñas, por lo que los incrementos en el área y la productividad son un gran desafío para el desarrollo sostenible basado en la economía del cacao (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2012). El departamento Norte de Santander ocupa el tercer lugar en producción en esta región, pero los niveles de producción han disminuido en los últimos 15 años de 6.000 tn en 1995 a 1.600 t en 2010 (Espinal G, Martínez C, & Peña M, 2005); Federación Nacional de Cacaoteros. 2012). Esta problemática ha sido ocasionada en gran medida por los problemas fitosanitarios generados por el cambio climático que generan condiciones favorables para la reproducción y propagación de enfermedades de origen fungoso, principalmente.

Theobroma cacao L. es la especie con mayor importancia del género *Theobroma*. Es un cultivo tropical endémico del territorio Amazónico (Juan C. Motamayor et al., 2008), perteneciente a la familia Malvaceae. Se han definido dos subespecies para *Theobroma cacao* L., *Sphaerocarpum*, presenta frutos redondeados con surcos difícilmente evidentes y semillas púrpura. A este tipo de material biológico se le conoce como forastero siendo este con más cultivos a nivel mundial (Federación Nacional de Cacaoteros 2013). Otra de las variedades que se puede encontrar, se caracteriza por presentar frutos alargados con surcos pronunciados y semillas blancas, conocido como la variedad Criollo. El cruzamiento *in vitro* de estos dos tipos de cacao dio origen a un tercer tipo llamado cacao trinitario o híbrido, este se caracteriza por una amplia variabilidad de tamaños, formas y comportamiento.

Clon	Susceptibilidad	Características	Patógeno
FEAR 5	Moderadamente susceptible (MS)	Genotipo proveniente de Arauquita, Arauca, alto grado de intercompatibilidad mayor a 65%, Sabor especial, Auto compatible (Regional).	<i>Moniliophthora roreri</i> (MS)
SARAVENA 13	Moderadamente susceptible (MS)	Genotipo proveniente de Saravena, Arauca, alto grado de intercompatibilidad mayor a 65%, Sabor especial.	<i>Moniliophthora roreri</i> (MS)
TAME (FTA 2)	Moderadamente susceptible (MS)	Genotipo proveniente de Tame, Arauca, sabor especial.	<i>Moniliophthora roreri</i> (MS)
ICS 60	Susceptible (S)	Hibrido trinitario proveniente de Trinidad (Imperial collage selection) Sabor especial, Tamaño de grano \geq 1.7 y alto contenido de grasas \geq de 55.	<i>Moniliophthora roreri</i> (S)
ICS95	Resistente (R)	Alto grado de intercompatibilidad mayor a 65%, auto compatible (introducido), Resistencia a Moniliasis y escoba de bruja	<i>Moniliophthora roreri</i> (R)
IMC67	Moderadamente resistente (MR)	Material genético Hibrido trinitario , Originado en Perú (Iquitos Maraño Collection) , Auto compatible	<i>Moniliophthora roreri</i> (MR)
CCN51	Moderadamente resistente (MR)	CNN-51 (Colección Castro Naranjal), un clon resistente a los males, creado a partir de cepas Iquitos (ecuatoriano-peruana, 45,4%), Criollo (Amazonia, 22,2%) y Amelonado (Ghana y Centroamérica, 21,5%) Este contenido ha sido publicado originalmente por Diario EL COMERCIO en la siguiente dirección: http://www.elcomercio.com/actualidad/negocios/cacao-ccn-51-paso-de.html .	<i>Moniliophthora roreri</i> (MR)
CACUCASIA 43		Grado de intercompatibilidad mayor a 65%, resistencia a Moniliasis y escoba de bruja, auto compatible (introducido).	<i>Moniliophthora roreri</i> , <i>Phytophthora sp</i>

TABLA 1. Características de clones comerciales más sembrados en Colombia, propuestos por FEDECACAO. (Federación Nacional de Cacaoteros, 2013)

Las condiciones edafoclimáticas para el adecuado desarrollo de este , son lugares con una precipitación de 1500 a 2500 mm al año, cuya temperatura esté entre 23 y 32°C y la altitud de 1000 a 1400 msnm(Arce, 2009; Ramírez Gil, 2016). En

Colombia, en los últimos años se ha notado un aumento en la siembra de clones comerciales, en el que sobresale el CCN51, el cual presenta ventajas comparativas con respecto a los demás clones, en aspectos como rendimiento, mayor resistencia a enfermedades, precocidad, plantas de baja estatura, buenos índices de mazorca y semillas por mazorca, entre otros.(Oliveros et.al 2013; Ramírez Gil 2016). Según Alarcón et al. (2012), el CCN51 tiene las características necesarias para ser cultivado en las distintas zonas de vida del país (Jhon Jairo Alarcon - Emilio Arevalo - Ana Luisa Diaz- Jose Roberto Galindo - Alfonso Rosero, 2012)

Tanto las distorsiones fisiológicas como las condiciones ambientales aumentan la susceptibilidad de *Theobroma cacao* a una variedad de patógenos fúngicos, principalmente de orden de Oomicetos (Marquina et al., 2011), que incluyen los géneros de *Phytophthora* y , Agaricales que incluye a *Moniliophthora roreri*, *Moniliophthora perniciosa*.

No obstante las prácticas inadecuadas en manejo agro-cultural por parte de los cacaoteros no han favorecido obtener resultados efectivos. Por tal motivo a la fecha, aun no se encuentra los métodos eficaces para el control de patógenos en el cultivo de cacao.

Por tanto, en el presente estudio se evaluaron in vitro aceites esenciales para el control de patógenos en *Theobroma cacao* L en la Vereda la esperanza, Norte de Santander

1. OBJETIVOS

1.1. Objetivo General

Evaluar in vitro de aceites esenciales para el control de patógenos en *Theobroma cacao L* en la Vereda la esperanza, Norte de Santander

1.2. Objetivos Específicos

- Determinar el porcentaje de incidencia de moniliasis y mazorca negra en el cultivo de cacao ubicado en la vereda la Esperanza antes del proceso de aplicación de aceites esenciales como anti fúngicos naturales
- Caracterizar macro y microscópicamente s Fito patógenos presentes en *Theobroma cacao L*, mediante métodos microbiológicos estándar.
- Establecer la concentración mínima fungicida (CMF) de 5 aceites esenciales capaz de inhibir el crecimiento de los s patógenos aislados.

2. JUSTIFICACIÓN

Uno de los cultivos que se consideran estratégicos para el reemplazo de cultivos ilícitos en este proceso de posconflicto es el cacao. Varios factores hacen posible que su aprovechamiento cobre mayor relevancia para la economía nacional: 1) más allá de ser una actividad, es una cadena productiva; 2) si bien sus productos aún no son considerados básicos, alcanza a reunir aproximadamente a más de 35.000 familias en diferentes regiones del país; 3) tiene un área de producción mayor a 150.000 hectáreas y 100.000 empleos en actividades de productos intermedios y finales (Cely Torres, 2017).

Según el Plan Decenal Cacaotero 2012-2021, elaborado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (Min agricultura) y el Consejo Nacional Cacaotero (Rosero J, 2012) , se esperaba tener para 2016 alrededor de 130.000 hectáreas modernizadas, y una producción de 156.000 toneladas para 2020, además de exportar cerca del 50 % de la producción nacional, especialmente en productos semielaborados y finales (Rosero J,et.al 2012) Las estrategias propuestas para el alcance de dichos objetivos tienen cuatro enfoques: 1) siembras nuevas, 2) renovación de hectáreas envejecidas, 3) rehabilitación de hectáreas y 4) requerimientos de material vegetal.

En la producción agrícola, los Fito patógenos originan importantes pérdidas económicas, debido a problemas como el damping-off (“ahogamiento” y “marchitamiento”), causado por una compleja asociación de los s los géneros de *Phytophthora* y *Pythium* (Urrutia Anaya, I; Pacheco Aguilar, 2008). Se estima que especies de *Phytophthora sp.* pueden causar pérdidas aproximadas al 10% de la producción mundial (Ramírez Gil, 2016; Schnell et al., 2007). En este sentido se considera a *P. megakarya* la de mayor potencial de daño (Pokou et al., 2008), mientras que *P. palmivora* es la que mayor distribución mundial presenta (Bowers, Bailey, Hebbbar, Sanogo, & Lumsden, 2001; Ramírez Gil, 2016) y está asociada a regiones tropicales con climas cálidos y de alta pluviosidad (Ramírez Gil, 2016).

El ciclo de vida de los s Fito patógenos transcurre entre las plantas hospederas y el suelo, por lo tanto, la supervivencia y patogenicidad de los s depende de las condiciones ambientales (humedad y temperatura) y características intrínsecas de las plantas (resistencia). (Urrutia Anaya, I; Pacheco Aguilar, 2008)

A nivel mundial se ha relacionado a *Moniliophthora roreri*, *Moniliophthora perniciosa* y *Phytophthora sp.*, como agentes causales de las enfermedades de mayor importancia para el cultivo, cuyo potencial de daño está asociado a regiones y a condiciones edafoclimáticas específicas (Hebbbar, 2007; Ramírez Gil, 2016; Schnell et al., 2007) *M. perniciosa* ha provocado reducciones del 70% en Brasil, aunque *M. roreri* continua considerándose la patología de mayor importancia en las zonas productoras de cacao en América del Sur (Ramírez Gil 2016; Jaimes et.al , 2010).

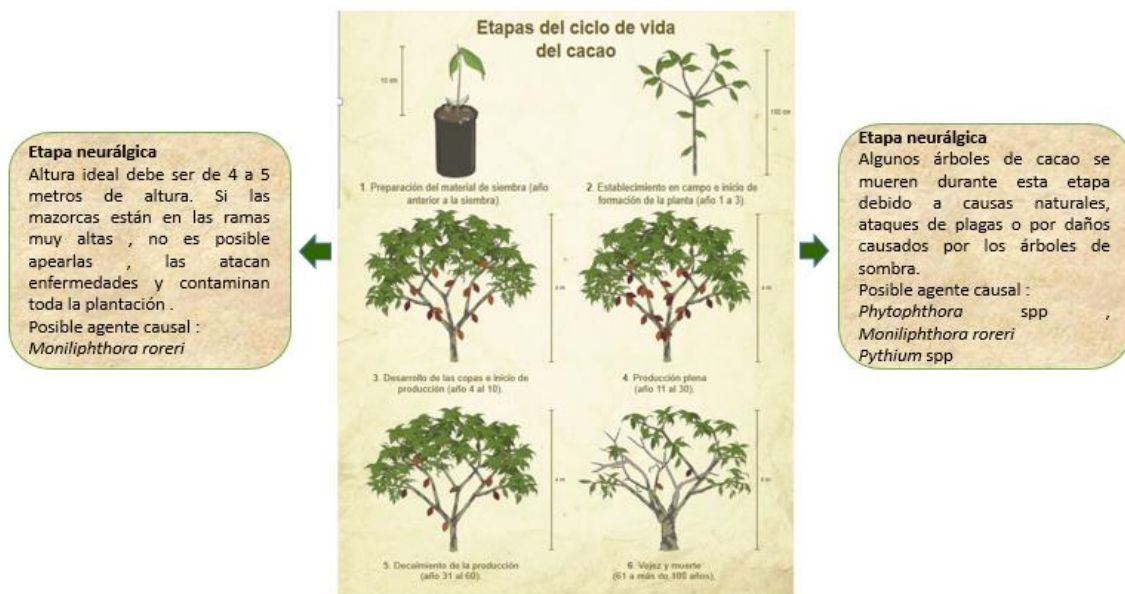


FIGURA 1. Etapas del ciclo de vida del cacao, tiempo de duración, etapas neurálgicas. (Fuente: Autor)

Para un desarrollo adecuado del cacao es necesario el control de plagas durante toda la vida productiva del cultivo, debido a que estas pueden surgir en cualquier momento y causar daños considerables, como la moniliasis y la escoba de bruja, las cuales pueden generar pérdidas de hasta el 60% de los cultivos (Tobergte & Curtis, 2013). Para el caso de Moniliasis en Colombia las pérdidas anuales son del 40% de cacao seco, con mayor impacto en el Departamento de Santander, aunque se reportan pérdidas entre 20 y 90% según la región y el grado de tecnificación de la plantación (Tobergte & Curtis, 2013). No obstante, con prácticas óptimas de manejo los daños se reducen de forma significativa (Fondo Nacional del Cacao, 2011) citado por (Álvarez, Martínez, & Coy, 2014). Una de las principales estrategias para su control es la adopción de los desarrollos tecnológicos y biotecnológicos que se ofrecen desde universidades y centros de investigación; con ellos se pretende el mejoramiento del producto, las condiciones del cultivo, y la calidad y volumen de producción de semillas (Zuidema *et al.*, 2005; Jaimes y Aranzazu, 2010) citado por Álvarez et al (2014).

Es necesario resaltar que en Colombia participan más de 25 mil familias, de las cuales el 90% desarrolla su proceso productivo en condiciones de economía campesina (Contreras & Riaño, 2013). En el país, el trabajo utilizado para la siembra del grano se distribuye en un 60% de mano de obra familiar y el restante 40% es contratado. El tipo de mano de obra utilizada depende de las actividades a realizar aunque por lo general prima la ocupación familiar. Cabe resaltar que en las labores de fertilización o de control de plagas que requieren análisis de suelos y uso de

plaguicidas, se debe utilizar personal técnico calificado para estas tareas, pero es superior el trabajo familiar. Lo anterior se debe al conocimiento hereditario de los agricultores sobre el tipo de prácticas a emplear sobre el cultivo. En conclusión se evidencia que en Colombia no se emplea un control adecuado del manejo del cultivo, pues no se le presta mayor atención al control de plagas y enfermedades. Esto sucede debido que precios bajos hacen que se abandone el cultivo a su suerte y no se invierta en él (Tobergte & Curtis, 2013).

La posibilidad de fortalecer la agricultura familiar parte de reconocer la significativa importancia que ella tiene en la sociedad colombiana, en particular en la sociedad rural, y el potencial con que cuenta para contribuir en la superación de los problemas económicos, sociales, ambientales y políticos que la sociedad enfrenta. En este sentido, actualmente en el departamento Norte de Santander, el sector cacaotero, recibirá apoyo en manejo fitosanitario y comercialización para acceder a mercados como Alemania, Francia y Bélgica.

Los productores fueron seleccionados teniendo en cuenta la calidad del grano y la cantidad de producción, entre los 11 productores beneficiados se encuentra la vereda La Esperanza, la cual es objeto del presente estudio (La opinión, 2017).

Por ser el cacao un cultivo de importancia económica y social tanto nacional como internacional, se hace necesario buscar otras estrategias de control más efectivas que reduzcan las pérdidas generadas por patógenos de origen fungoso. De esta manera se considera relevante explorar la alternativa biotecnológica basada en el uso de aceites esenciales para el control efectivo de Fito patógenos primarios como *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora sp* en fincas de cacao ubicadas en el departamento Norte de Santander. En este sentido, los AE se perfilarían como alternativas para innovar en el campo de la agricultura sostenible velando siempre por los impactos sociales, económicos y ambientales que de ella se deriven

3. MARCO REFERENCIAL

3.1 MARCO TEORICO

3.1.1 *Theobroma cacao* L EN COLOMBIA

(*Theobroma cacao* L.) pertenece orden Malvales ,familia Malvaceae y es una de las 22 especies del género *Theobroma* (Alvim, 2007). Se cree que se originó en la cuenca alta del Amazonas (Zhang et al., 2012) y luego haberse extendido a las tierras bajas tropicales. *T. cacao* se cultiva principalmente entre 20 ° LN y 20 ° LS. Sin embargo, las mejores plantaciones se encuentran entre 10 ° LN y 10 ° LS (J. C. (J. C. Motamayor et al., 2002). En las Américas, *T. cacao* se cultiva desde el sur de México hasta Brasil y Bolivia (Clement, de Cristo-Araújo, d'Eeckenbrugge, Pereira, & Picanço-Rodrigues, 2010). Los países tropicales son los principales productores de cacao, entre ellos se encuentran África, Asia, Oceanía y América Latina. Por el contrario, los fabricantes de cacao se encuentran en Europa y América del Norte (ICCO, 2014).

En la última década, el área sembrada se extendió un 42.2%. Se destaca Costa de Marfil con 1´559,441 toneladas de cacao producidas en 2011, siendo el principal productor mundial, concentrando el 33.8% en el mundo. Le siguen Ghana, con el 15.5% y 15.2% respectivamente. En África, los cinco mayores productores de cacao en grano son Costa de Marfil, Ghana, Nigeria, Camerún y Togo, concentran el 65.8% de la producción mundial. Por su parte, en América los cinco mayores productores de cacao son Brasil, Ecuador, Perú, República Dominicana y Colombia, y concentran el 13,6% de la producción mundial (Pabón et al . 2016).

El área sembrada con plantaciones de cacao en Colombia no se conoce con exactitud, ya que no se ha actualizado el Censo Nacional Cacaotero desde 1998. Las estimaciones realizadas con base en lo reportado por Fedecacao indican que el área se ha incrementado y se calcula que para el año 2014 la misma fue de 160,276 hectáreas. No obstante hay datos que se desconocen tales como el número de plantaciones que se tumban para sembrar cultivos con fines ilícitos u otros legales .(Federación Nacional de Cacaoteros ,2013).

Las plantaciones de cacao se pueden sembrar en zonas donde las precipitaciones anuales varíen entre 1.500 y 3.800 mm, siendo el rango entre 1.800 y 2.600 mm donde mejor se desarrolla. En zonas con una menor precipitación puede cultivarse el cacao con la implementación artificial de riego. Para el caso de las zonas con altas precipitaciones en cambio existe un alto riesgo de que se presenten problemas fitosanitarios lo cual haga muy dispendioso y costoso su manejo.(Federación Nacional de Cacaoteros, 2013).

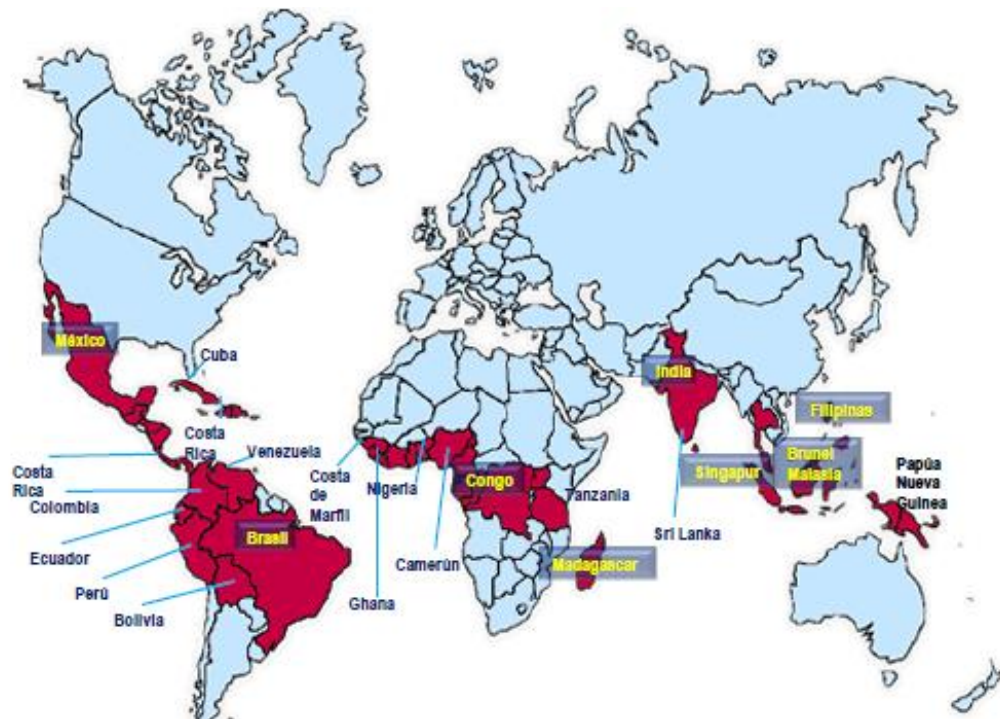


FIGURA 2. Ubicación de los principales países productores de cacao en grano en el mundo. (Federación Nacional de Cacaoteros, 2013)

Respecto a la temperatura adecuada para el cacao se encuentra entre los 18 y 32°C. Este factor es uno de los más importantes en la siembra de cacao, ya que por ejemplo las variaciones mayores a 9°C entre el día y la noche afectan la formación de los frutos y la polinización, por otra parte las flores del cacao no se forman bajo temperaturas inferiores a los 25°C (Federación Nacional de Cacaoteros, 2013).

El cultivo de cacao en Colombia se desarrolla hoy en día en las zonas de Valles Interandinos Secos, la Zona Marginal Baja Cafetera, La Montaña Santandereana y el Bosque Húmedo Tropical, siendo las dos últimas las zonas donde se encuentra la mayor área cacaotera del país, donde la formación y maduración del fruto tarda de 4 a 5 meses con respecto a las otras zonas donde estas etapas conllevan más tiempo. (Federación Nacional de Cacaoteros, 2013).

Cada una de estas zonas cuenta con ambientes de clima, topografía y suelos que las hace en mayor o menor medida idóneas para el desarrollo del cultivo del cacao, generando así, algunas ventajas o desventajas frente a otras, desde el punto de vista de prácticas de manejo y potencial productivo.

Se debe agregar que en nuestro país, el área cultivada reportada en 2014 fue de 160,276 hectáreas, produciendo alrededor de 47,732 toneladas de granos de cacao por año; colocándolo como el décimo país y área productora cosechada en todo el

mundo; así como el tercero en Sudamérica debajo de Brasil y Ecuador. Desde 1960, la producción colombiana de cacao no ha mejorado considerablemente, debido en parte a las antiguas plantaciones de cacao, la incidencia de enfermedades y la plantación monoclonal.(Osorio-Guarín et al., 2017). Sin embargo, se han venido desarrollando programas de renovación, siembra nueva y planes de fertilización realizados en algunas regiones cacaoteras del país, contribuyendo a un notable crecimiento. En 2016, la producción de cacao aumento un 3.6 % al pasar de 54.798 toneladas a 56.785, a pesar del fenómeno de la niña y el niño en el año 2015. Según FEDECACAO el incremento en la producción se debe a que los campesinos han aprendido a manejar los cultivos y controlar las enfermedades por medio de la programas de fertilización, renovación y manejo de pos cosecha.

Respecto al precio, el precio mundial del cacao se cotiza en las bolsas internacionales de Londres y Nueva York. Según la ICCO (2014), su valor opera bajo dos modalidades:

“en los mercados actuales o físicos y los contratos a futuros y opciones. El precio diario para el cacao en grano se calcula usando el promedio de las cifras de los tres primeros meses de negociación más cercanos del futuro activo en el mercado terminal del cacao de Londres y en el intercambio del café, del azúcar y del cacao de Nueva York a la hora del cierre de Londres”.

El precio internacional del cacao en grano se fija según la oferta y la demanda internacional, lo que causa un comportamiento cíclico, debido también (y principalmente) a factores climáticos adversos, que impiden que la producción esperada no supla las necesidades y requerimientos del mercado. A dichas adversidades se suman también causas políticas, económicas y naturales, que no solo desestabilizan el comportamiento de la producción, sino también de la demanda.

En Colombia, durante el 2016 el promedio de los precios del cacao estuvieron por encima de 8000 pesos el kilo, cabe destacar que las importaciones disminuyeron, debido a que hubo mayor producción nacional e interés de la industrial por adquirir el producto colombiano.

3.1.2 ENFERMEDADES DE CACAO

Los problemas fitosanitarios son los principales factores que han beneficiado la caída en la producción de cacao y la baja en la calidad del producto final. Entre ellos, las enfermedades causadas por s Fito patógenos (Hebbar, 2007).

En cuanto a la presencia de enfermedades, la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) se encuentra presente en el 100% de los cultivos de cacao causando en promedio un 22.8% de daño total en los cultivos. Con relación a la escoba de bruja

(*Moniliophthora perniciosa*), al parecer está presente en el 95.1% de los cultivos de la región santandereana y en estos, el porcentaje promedio de daño total en los cultivos se sitúa en el 11.6%. La Fitóftora (*Phytophthora palmivora*) se encuentra presente en el 61.8% de los cultivos, causando en promedio daños totales que ascienden al 4.96%. Otras enfermedades o plagas no especificadas, están presentes en el 12.3% de los cultivos causando daños totales promedio del 4.2% (Pabón et.al .2016).

En este sentido, la moniliasis es la enfermedad que genera más limitaciones en la producción de cacao en Colombia (Jaimes et al., 2011; Osorio-Solano et al., 2012). El control de estas enfermedades en Colombia se enfoca, principalmente, en la implementación de prácticas culturales que son ineficientes e incrementan los costos de producción (Jaimes et al., 2011). Debido a esta enfermedad, la productividad ha venido decreciendo en los últimos 10 años, (Villamil et al., 2012). Por ello, el control de la moniliasis continua siendo uno de los principales retos a los que se enfrenta el cacao cultura en Colombia. Algunos avances al respecto incluyen el desarrollo de agentes biocontroladores (Villamil et al., 2012. Durante la última década en Colombia y otros países de Latinoamérica productores de cacao, se han venido desarrollando investigaciones en búsqueda de agentes biocontroladores, pero han resultado insuficientes debido a la gran capacidad de adaptación de la moniliasis a las diferentes condiciones agroecológicas donde se desarrollan los cultivos (Jaimes et al., 2011).

3.1.2.1 MONILIASIS (*Moniliophthora roreri*)

3.1.2.1.1 Clasificación Taxonómica

Estudios recientes sobre la taxonomía del mediante pruebas morfológicas, citológicas y moleculares confirman que este patógeno pertenece a Phylum Bacidiomicete (Evans, Holmes, & Reid, 2003), correspondiente al orden Agaricales (Sánchez-Mora & Garcés-Fiallos, 2012), y familia *Marasmiaceae* (Phillips-Mora, Aime, & Wilkinson, 2007).

3.1.2.1.2 Caracterización Morfológica

Moniliophthora roreri se caracteriza por ser un mitospórico dentro de los Agaricales. Las esporas son multifuncionales y sirven no solo para el intercambio genético sino también para la dispersión, infección y sobrevivencia (Evans et al., 2003). La geometría de las esporas varía de esféricas a ovaladas y presentan dos casos de germinación, ya sea por medio del poro germinativo o en ocasiones directamente desde la pared celular (Evans et al., 2003). Las esporas de mayor edad se caracterizan por sus paredes con mayor grosor y tonalidades oscuras, las cuales dan inicio a la fase de dormancia (Evans et al. 2003). En la actualidad se desconoce el estado perfecto del (sexual o teleomorfo), por lo que se cree que su reproducción

se realiza asexualmente por conidias, las cuales son la única estructura hasta ahora conocida capaz de causar infección (Evans et al., 2003).

3.1.2.1.2 Dispersión y ciclo de vida

La infección se presenta en la superficie de los frutos y en cualquier fase del desarrollo vegetativo, sin embargo la susceptibilidad más alta se observa en los primeros estados de desarrollo del fruto. Una vez penetra el fruto, el patógeno se desarrolla intracelularmente e invade las células del parénquima cortical. El daño externo es caracterizado por una necrosis, deformación y pudrición en mazorcas, aunque algunos frutos de 60 y 80 días pueden completar su desarrollo sin síntomas externos, pero con el tejido interno necrosado (Reuck, 1997) citado por (Sánchez M et al., 2012). Esta fase es considerada el período más largo de incubación de la enfermedad (Zhang et al., 2012). Con el tiempo los síntomas aumentan en severidad y favorecen el crecimiento del patógeno el cual, finalmente, después de varios meses de la inoculación, es fácilmente observado en la superficie del fruto donde produce anomalías de formas geométricas y protuberancias o tumores (Evans et al., 2003).

En los frutos menores de dos meses, la infección aparece primero como pequeños abultamientos o gibas (protuberancias) en la superficie de la mazorca, incluso esa área se descolora (se vuelve más clara); después que emerge esa giba, se presenta una mancha café (chocolate) que se va extendiendo (el fruto muere poco después), empezando a aparecer una felpa blanca correspondiendo al micelio del (filamentos vegetativos), para luego de tres a siete días, sobre el micelio blanquecino emerger las esporas del tipo conidio de color crema (FHIA 2003). Un síntoma adicional es la llamada madurez prematura, donde las mazorcas cambian de color dando la apariencia de madurez en frutos que todavía están inmaduros (Zhang et al., 2012) Hasta 10 semanas de edad los frutos pequeños son susceptibles (Amores et al. 2009)

En frutos infectados a mitad de su desarrollo, la enfermedad aparece primero en forma de unos pequeños puntos aceitosos (translúcidos), en muy corto tiempo esos puntos se unen formando una mancha café, el borde de la mancha es irregular y a veces produce un color amarillento por donde va avanzando la enfermedad, a los pocos días sobre la mancha café aparece el micelio y luego las esporas que forman un grupo acumulado abundante de color crema, las esporas que reproducen el son tan abundantes que en un centímetro cuadrado, se cuentan desde 7 a 43 millones, bastando sólo una para iniciar la enfermedad (Zhang et al., 2012)

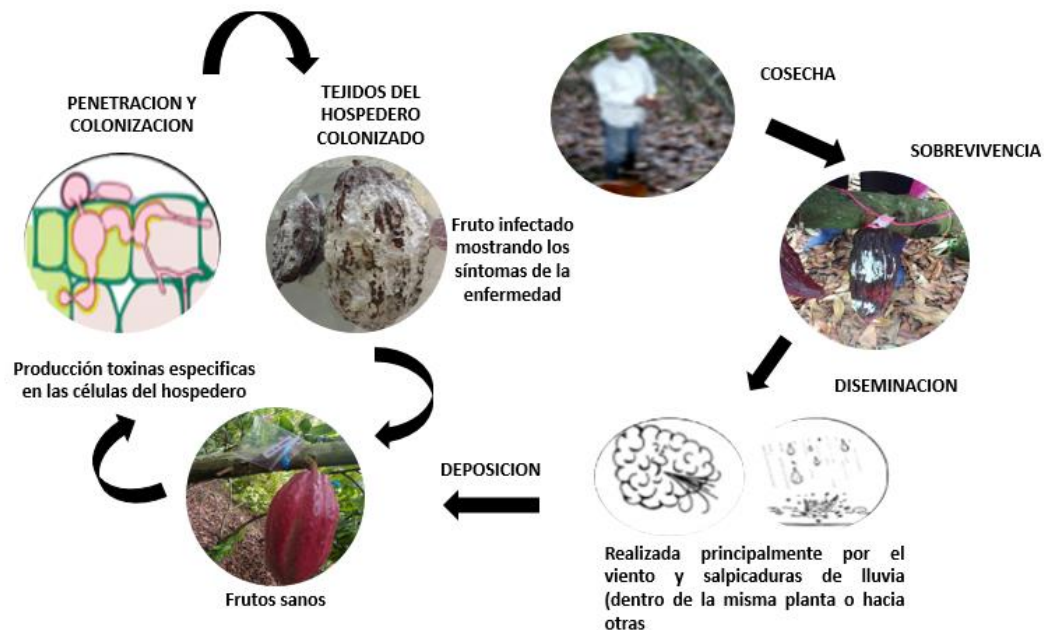


FIGURA 3. Ciclo de vida de *M. royeri*. Fuente: Autor

3.1.2.2 ENFERMEDADES POR OOMICETOS (*Phytophthora sp.*)

3.1.2.2.1 Clasificación Taxonómica

El Phylum Oomycota , perteneciente al reino Cromista , comprende más de 700 especies , las cuales no poseen pigmentos fotosintéticos , poseen dos flagelos en las zoosporas , con paredes formadas por celulosa o polímeros similares a la celulosa que tienen hábitos acuáticos y terrestres , aunque siempre necesitan la presencia de agua (Jaramillo 2003) citado por (Lara, 2009).

REINO	Cromista (grupo Stramenophyle)
PHYLUM	Oomycota
CLASE	Oomycete
SUBCLASE	Peronosporomycetidae
ORDEN	Pythiales
FAMILIA	Pythiaceae
GENERO	<i>Phytophthora sp</i> , <i>Pythium sp</i>

TABLA 2. Clasificación taxonómica *Phytophthora sp.* (Fuente: Jaramillo 2003)

3.1.2.2.2 Caracterización Morfológica

A continuación se mencionan las características de las estructuras vegetativas y reproductivas asexuales y sexuales presentes en *Phytophthora sp*, consideradas en las descripciones:

ESTRUCTURAS	<i>Phytophthora sp</i>
VESÍCULA	Ausencia
APRESORIOS	Forma y abundancia
HINCHAMIENTO HIFALES O "SWELLINGS"	Se forman en algunas especies. Tipo de agrupamiento ("clusters" o racimos, en cadena, aislados).
CLAMIDIOSPORAS	Presencia o no. Forma: esféricas, subesféricas, terminales o intercalares, granulosas, hialinas, amarillentas u oscuras.
ZOOSPORANGIO	Forma: globosos o esféricos, limoniformes, elipsoidales, ovoides, obturbinados, alargados y otros; vacuolados o no. Presencia de papila: papilado (1-2), semipapilado, no papilado. Ubicación: terminal, intercalar, lateral. Tamaño promedio de 30 mediciones
ZOOSPORANGIOFORO	Caducidad: Caduco (deciduo) o persistente. Forma: corto, largo, delgado o grueso, simple o ramificado Ramificación: simpodial simple, simpodial compuesto, umbelado. Proliferación: presencia o ausencia, interna o externa.
OOGONIO	Posición: intercalar o terminal, de pared lisa u ornamentada. Presencia de ornamentos: forma (verrugas) y cantidad. Tamaño: promedio de 30 mediciones.

TABLA 3. Características de estructuras vegetativas y reproductivas asexuales y sexuales *Phytophthora sp*. (Palmucci, 2015)

La morfología en *Phytophthora* es utilizada para la clasificación de especies, que aunque puede ser relativamente simple, las diferencias morfológicas con otras especies del mismo género son tan pequeñas y algunas características tan variables, que incluso expertos consideran que el género es difícil de clasificar. Debido a su significativo impacto económico y ambiental, el interés por los aspectos genéticos y genómicos de estos Oomycetes ha aumentado. De igual manera, se han incrementado los esfuerzos por recopilar la información fenotípica y genotípica de este género (González & Torres, 2015) .

3.1.2.2.3 SUPERVIVENCIA, DISPERSION Y CICLO DE VIDA

La introducción del inóculo, tanto de *Pythium* como de *Phytophthora*, en una planta sana, puede deberse a la presencia de suelos o sustratos contaminados, al agua de riego como vehículo de las zoosporas o a la utilización de semillas u órganos de propagación vegetativa infectados (Agrios, 2005) citado por (Palmucci, 2015). Al descomponerse los tejidos vegetales colonizados por el patógeno, las oosporas se liberan en el suelo, donde pueden sobrevivir durante muchos años. Cuando el suelo se satura con agua, las oosporas pueden germinar formando zoosporangios, los cuales liberan zoosporas como en el caso de *Phytophthora*, o producen una vesícula con zoosporas como en *Pythium*, dependiendo de las condiciones ambientales de humedad y temperatura. En el caso de las especies patógenas, cuando una planta hospedante susceptible se halla en las cercanías, las zoosporas se mueven hacia las puntas de las raíces, mediante el impulso de los flagelos, en respuesta a estímulos químicos ocasionados por los exudados radiculares (quimiotaxis) La electrotaxis (atracción a campos eléctricos) también ha sido reportada (Palmucci, 2015).

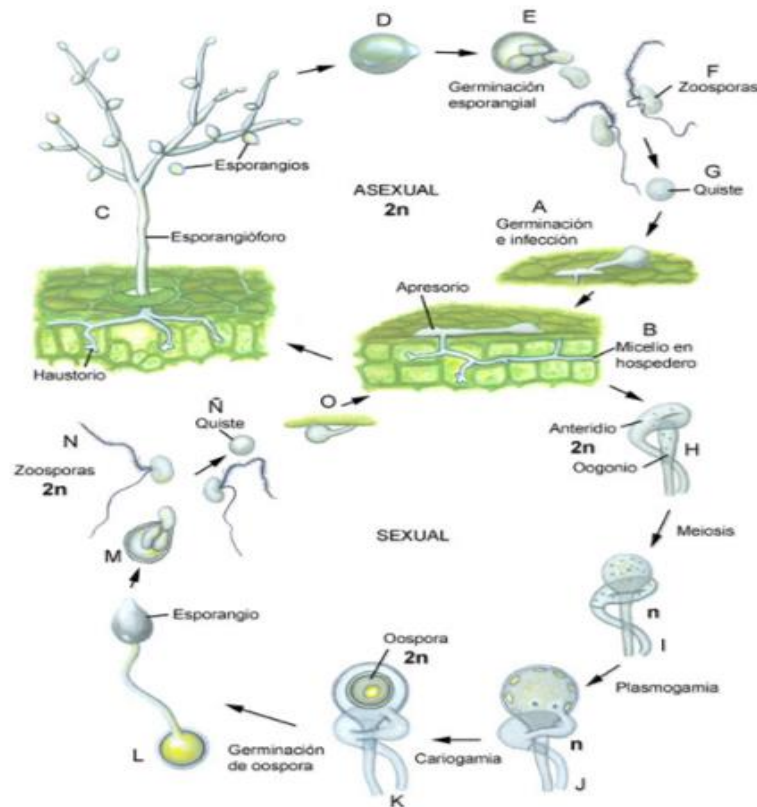


FIGURA 4. Ciclo de vida de *Phytophthora sp* (Oomycetes). (Ulloa .1990).

A.-G. Fase de reproducción asexual, diploide, en la cual el micelio vegetativo desarrollado dentro de la planta hospedera produce esporangióforos que emergen de los estomas. Los esporangios, formados en los esporangióforos, son deciduos y germinan directamente para formar un tubo germinal (no ilustrado) o germinan liberando zoosporas; las zoosporas se enquistan y al germinar sobre el hospedero forman apresorios y penetran desarrollando el micelio vegetativo.

H-O. La fase de reproducción sexual comprende la formación de oogonios y anteridios diploides. La hifa oogonial crece a través del anteridio y la meiosis ocurre en ambos órganos sexuales. A partir del anteridio se desarrolla un tubo de fertilización y un núcleo masculino haploide pasa a través de dicho tubo para fertilizar al núcleo femenino haploide y constituir la oospora diploide; la oospora, al quedar libre del oogonio, germina produciendo usualmente un esporangio. Las zoosporas liberadas de este esporangio continúan el ciclo de infección. (Ulloa 1990).

El desarrollo de *Phytophthora*, tanto en suelos como en sustratos, es favorecido por largos períodos húmedos ocasionados por condiciones ambientales como la falta de luz, la escasa ventilación, el riego excesivo o una inadecuada condición del suelo o el sustrato (deficiente drenaje, mezclas arcillosas, con baja aireación), las cuales predisponen la diseminación e infección de estos patógenos, ya que posibilitan su desplazamiento a través de las láminas de agua (Benson, 1997). Esta ventaja adaptativa permite que en los cultivos plantados en sustratos y más aún en sistemas recirculantes o hidropónicos, *Pythium* y *Phytophthora* ocasionen los principales problemas fitosanitarios; por lo tanto se debe tener en cuenta que los sustratos, sistemas recirculantes, cultivos hidropónicos y medios de enraizado siempre húmedos, sumado a la falta de microorganismos supresores en la zona de la raíz, son ambientes ideales para el desarrollo de los Oomycetes (Sutton et al., 2006). Además, en los cultivos bajo cobertura, la propagación de enfermedades es favorecida por condiciones más propicias al desarrollo de los patógenos, tales como la elevada humedad ambiente, el sistema de riego, la mayor densidad de plantación, comunes en este tipo de producción (Palmucci, 2015).

3.1.2.2.4 *Phytophthora sp* en cultivo de cacao (Mazorca negra)

La infección accionada por esta enfermedad tiende hacer parcial o total afligiendo directamente a la producción y a la calidad de las almendras cosechadas. Para el manejo de la enfermedad los costos por lo general son altos, complicándose en los periodos de precios bajos. Las enfermedades más comunes que se presentan frecuentemente en la mayoría de los países productores de cacao son notorias a escala global, causan pérdidas significativas infectando frutos. Un ejemplo típico son las enfermedades causadas por el género *Phytophthora*: *P. capsici*, *P. citrophthora*, *P. magakarya* y *P. palmivora* (Hebbar, 2007).

Los síntomas de la mazorca negra se inician con manchas de color café claro que avanza la enfermedad el fruto termina cubierto totalmente de color negro mientras que las almendras llegan a podrirse; es decir, el patógeno penetra el tejido ocasionando la decoloración y pudrición de las almendras y, finalmente, el ennegrecimiento y momificación de las mazorcas . Los frutos que se encuentran en la parte más baja de la planta siendo estos las mazorcas más afectados ya que se encuentran cerca al suelo donde hay mayor humedad (Osorio et.al 2012)

El ciclo de la mazorca negra tiene cuatro fases que inicia con la formación del micelio, de esporangios, zoosporas y clamidosporas. En el suelo, las raíces, hojas, cojines florales, flores y frutos infectados se da el inóculo primario que durante condiciones húmedas se establece la infección formando los esporangios (Walker & van West, 2007) La infección se da por la producción de inóculo secundario formado por esporangios que contienen zoosporas biflageladas. El microorganismo *P. megakarya* produce mayor número de zoosporas y en forma más temprana que *P. palmivora*. Las zoosporas infectan directamente al cacao, en ausencia de precipitaciones, las zoosporas se encapsulan para germinar posteriormente cuando las condiciones son favorables. Una sola mazorca afectada puede producir cuatro millones de esporangios que contienen zoosporas (Hebbar, 2007).

3.1.3 METODOS DE CONTROL

En el desarrollo del cacao es muy importante el control de enfermedades desde el vivero y durante toda la vida productiva del cultivo, debido a que estas pueden aparecer en cualquier momento y ocasionar daños considerables.

3.1.3.1 Control cultural

El control cultural se caracteriza por crear un ambiente desfavorable para el crecimiento de los patógenos como es la erradicación de hospederos, rotar cultivos, realización de podas sanitarias, fertilización, y eliminación de tejidos y frutos enfermos. Entre otras labores a realizar es la preparación del terreno, manejo de hojarasca, aplicación de riego y drenaje y por ultimo instalación de coberturas con polietileno. El control cultural también se basa en tratamientos de termoterapia, esterilización del suelo, refrigeración y radiaciones de rayos alfa, beta, gamma y X, algunos de estos dependientes de condiciones tales como el calor o frío. (Agrios, 2005).

3.1.3.2 Control químico

Este método se caracteriza por el uso de productos agroquímicos que actúan directamente con el patógeno tratando de reducir las poblaciones de estos microorganismos. La aplicación de estos insumos pueden ir direccionadas directamente al suelo, a la planta y a los frutos para evitar que se proliferen los patógeno (Agrios, 2005). De acuerdo con el nivel de daño del patógeno se aplica el tipo de sustancias, por lo que en algunas ocasiones se usa como medida preventiva

sustancias protectantes o terapia local con fungicidas sistémicos como medida curativa siendo estos más agresivos.(Condor et.al, 2015)

3.1.3.3 Control Biológico

El control biológico se fundamenta en la aplicación de organismos vivos (microorganismos) como un método de manejo en la disminución de inóculos de los patógenos. Para combatir a los patógenos se buscan microorganismos antagonistas nativos lo que evita la diseminación de la enfermedad(Yeirme & Aranzazu, 2010). Este tipo de control debe ser utilizado conjuntamente con otros métodos (Sánchez y Garcés, 2012) citado por (Condor et. al 2015).

ENFERMEDAD	CULTURAL	FÍSICO	GENÉTICO	BIOLÓGICO	QUÍMICO
Moniliasis (<i>Moniliophthora sp</i>)	Reducir la humedad en el lote, realizando los drenajes que sean necesarios, podas, regulación de sombrío, cosechar en forma oportuna, controlar la altura del árbol.	Remoción de mazorcas enfermas a intervalos de 8 días al inicio de lluvias/floración y luego, en época más seca, pasar cada 15 días.	Uso de clones con tolerancia. - CCN 51 - FLE 2 - ICS 95	Biocontroladores: <i>Trichoderma sp.</i> , <i>Clonostachys rosea</i> , <i>T. harzianum</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. mycooides</i> , <i>B. megaterium</i>	El clorotalonil (Bravo, Daconil), Oxicloruro de Cobre o Sulfato de Cobre cada 15 o 20 días.
Escoba de bruja (<i>M. roreri</i>)	Realizar las podas antes de iniciar la época de lluvias, regular la sombra	Cortar las escobas por lo menos 2 veces al año junto con la poda y antes de que las escobas alcancen las 17 semanas.	Utilización de clones tolerantes CCN-5 ICS-1 ICS-95	Aplicación de biocontroladores: <i>T.harzianum</i> , <i>Arthrobacter</i>	

TABLA 4. Tipo de controles *Moniliophthora sp* Fuente :(Federación Nacional de Cacaoteros, 2013)

En Colombia se reportan inhibiciones hasta de 95% en el crecimiento en condiciones de laboratorio de *M. roreri* con diferentes cepas controladoras de crecimiento como *Trichoderma sp.* y de 89% con *Bacillus brevis* (Condor et.al, 2015).

3.1.3.4 Control Genético

Para el control de enfermedades fúngicas la utilización de clones resistentes es, sin duda, la elección más apropiada para los agricultores ya que los costos de

producción reducirían siendo esto favorable para el medio ambiente. No obstante hasta la fecha se han desarrollado muy pocos genotipos altamente resistentes a las infecciones, lo que indica que gran parte de la población vegetal actual contiene genotipos débiles, vulnerables a infecciones por patógenos (Yeirme & Aranzazu, 2010)

ENFERMEDAD	CULTURAL	FÍSICO	GENÉTICO	BIOLÓGICO	QUÍMICO
<i>Fitoftoria o pudrición parda de la mazorca y cáncer de tronco (Phytophthora sp.)</i>	Disminuir humedad interna; control de la sombra, podar y fertilizar bien. Remoción de las mazorcas enfermas.	Cortar los frutos infectados, cubrirlos y en lo posible agregarles cal para acelerar su descomposición	Clones tolerantes - ICS-60 - CCN-51 - ICS-1	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Streptomyces sp</i>	Puede ser necesario usar Metalaxyl (Metalaxil-M, Mancozeb) con la pasta cicatrizante que se coloca sobre el tronco cuando se realizan los cortes para retirar el tejido del tallo afectado.

TABLA 5. Tipo de controles *Phytophthora sp.* (Federación Nacional de Cacaoteros, 2013)

3.1.3.5 Control Alternativo

3.1.3.5.1 Aceites esenciales

Distintas especies vegetales producen aceites esenciales los cuales juegan un papel importante en los mecanismos de defensa del hospedero contra Fito patógenos. En los últimos años se ha demostrado que los aceites esenciales y sus compuestos tienen efecto fungicida, son inocuos para el medio ambiente, consumidores y para el control de enfermedades pos cosecha. La necesidad de disminuir el control químico en la agricultura, ha aumentado el interés por la posible aplicación de aceites esenciales para el control de fitopatogenos (Barrera, 2008) El término aceite esencial (AE) es utilizado para referirse a sustancias líquidas, volátiles, de carácter lipofílico y con fuertes propiedades aromáticas. La mayoría de los AE son extractos de plantas aromáticas localizadas en zonas templadas y cálidas como áreas mediterráneas y tropicales. Son líquidos, volátiles, cristalinos, raramente coloreados, solubles en disolventes orgánicos y generalmente con menor densidad que el agua y estas sustancias son sintetizadas por las plantas como metabolitos secundarios y pueden ser extraídas mediante métodos físicos como la destilación a vapor o hidrodestilación.

En la actualidad se conocen alrededor de 3000 AE, 300 de los cuales son comercialmente importantes para la industria farmacéutica, sanitaria, cosmética y alimentaria. Los AE y/o muchos de sus componentes son ampliamente usados en perfumería, cosmética, en industria farmacéutica, odontología, agricultura, como aditivos en la industria alimentaria y como remedios naturales.

Por ejemplo, d-limoneno, geranyl acetato o d-carvona, se utilizan en perfumes, cremas, jabones, como aroma en productos químicos de limpieza y como aditivos en alimentación. Además, el uso de mezclas de AE está siendo ampliado en la actualidad con fines terapéuticos y en aromaterapia (Ospina et.al, 2011).

Químicamente, son metabolitos secundarios derivados de terpenos (mono y sesquiterpenos) y sus compuestos oxigenados incluyendo carbohidratos, alcoholes, éter, aldehídos y cetona; por tanto la presencia de aceites esenciales y su composición son responsables de las fragancias y de las propiedades biológicas de las plantas aromáticas y medicinales (Kalemba & Kunicka, 2003; Olivero J *et al.*, 2009; García C *et al.*, 2010) citado por (Cruz 2016).

Aproximadamente 17.500 especies de plantas con propiedades aromáticas ampliamente distribuidos en unas 60 familias de plantas, principalmente *Asteraceae*, *Lamiaceae*, *Lauraceae*, *Verbenaceae*, *Myrtaceae*, *Pinaceae*, *Rosaceae*, *Rutaceae*, *Umbeliferae*, entre otras; de las cuales se reportan altos contenidos de aceites esenciales (Peris y Asencio, 2002). Varios aceites producen efectos: farmacológicos, antiinflamatorios, antioxidantes y propiedades anticancerígenas. Otros son biocidas contra una amplia gama de organismos tales como bacterias, s, virus, protozoos, insectos y plantas (Kalemba & Kunicka, 2003: Thembo K *et al.*, 2010). citado por (Cruz 2016).

Una posible alternativa para evitar el uso de fungicidas químicos es el empleo de plantas medicinales y aromáticas, las cuales contienen metabolitos con propiedades anti fúngicas, que inhiben el desarrollo de los s, Puesto que en Colombia presenta una condición de alta heterogeneidad en la siembra de especies de plantas aromáticas y existen cerca de 120 especies con potencial productivo y con aptitud para ser cultivadas tales como la manzanilla, la limonaria, la albahaca, la hierbabuena, y cilantro entre las más importantes, otras aromáticas y especias ampliamente reconocidas son tomillo, menta, romero, orégano, anís. La producción de aromáticas y especias en nuestro país se encuentra ubicada en las zonas frías y ligeramente templadas, sobresaliendo los departamentos de Antioquia, Cundinamarca, Cauca y Nariño (Armando & Unigarro, 2014).

3.1.3.5.2 MECANISMO DE ACCION

Algunos antimicrobianos naturales se obtienen principalmente de hierbas, plantas y especias. Lo más difícil es extraer, purificar, estabilizar e incorporar dicho

antimicrobiano al alimento sin afectar su calidad sensorial y seguridad (Armando & Unigarro, 2014).

La mayor parte de los antimicrobianos para frutas y vegetales son bacteriostáticos (sistemas de conservación que impiden el desarrollo de gérmenes) o fungistáticos, en lugar de bactericidas (sistemas de conservación que destruyen gérmenes) o fungicidas, por lo que su efectividad sobre los alimentos es limitada (Alarcon et.al , 2012)

El mecanismo de acción de los antimicrobianos dentro de una célula se lleva a cabo en parte o funciones importantes para la sobrevivencia de la célula, Puede llevarse a cabo en la pared celular, membrana celular, en la síntesis de proteína, en su genética y en la síntesis de su genética. Esto puede causar daños irreparables en la célula. De varios de los antimicrobianos no se conoce aún su modo de acción, pero al actuar de forma diferente las combinaciones de estos pueden llevar a mejores resultados (Ponce et.al 2003)

Existen pocos estudios enfocados a comprender el mecanismo de acción involucrado en la inhibición microbiana por *especies* y sus aceites esenciales. Sin embargo, se supone que dada la estructura fenólica de muchos de los compuestos con actividad antimicrobiana presentes en las *especies* y sus aceites esenciales, el modo de acción debe ser similar al de otros compuestos fenólicos (Ponce et al., 2003)

Los aceites esenciales son de naturaleza hidrofóbica y de gran viscosidad. Estas características pueden reducir la capacidad de la dilución o pueden causar distribución desigual del aceite a través del medio, aun si se usa un agente correcto disgregante o solubilizaste, Se tiene que comprobar si las concentraciones aplicadas del emulsor o del solvente no afectan el crecimiento y la diferenciación de los microorganismo de prueba. Los cultivos de microorganismos se realizan en medios líquidos, bajo condiciones físicas óptimas para las *especies* individuales. Los microorganismos tienen que alcanzar una fase apropiada del crecimiento, y un número *específico* de células tiene que ser utilizado para la prueba (Sánchez, 2011).

3.1.3.5.3 APLICACIONES DE ACEITES ESENCIALES

Las aplicaciones industriales y terapéuticas de los AE dependen, principalmente, de su composición química, calidad, propiedades organolépticas, así como del grado de refinamiento de la esencial.

Aceite Esencial	Componentes principales	Clase de actividad	USOS/ EFECTO
AE1	Timol y carvacrol	General	Utilizadas tradicionalmente para el control de enfermedades gastrointestinales y respiratorias. Extractos etanolicos de <i>L.organoides</i> inhibe en un 100 % a <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , cuando se aplica a una concentración de 2.5% de extracto en medio de cultivo.(Arango Bedoya et al. 2014)
AE2	Piperitona Geranial, neral	General	Planta ornamental. Al aceite esencial de <i>L. alba</i> se le han atribuido propiedades anti fúngicas insecticidas y viricidas Algunos autores han reportado la actividad antifúngica contra <i>C. gloeosporioides</i> del aceite esencial de <i>L. alba</i> al igual que el de otras especies dentro del género <i>Lipia</i> .(Cordero, et.al , 2017)
AE3	Eugenol, acetil eugenol, beta-cariofileno y vainillina.	General	Propiedades anestésicas, antiagregantes, antiedemicas, antioxidantes, antisépticas, herbicida, pesticida, antivirales, vermifugas.Se ha informado que Eugenol inhibe el crecimiento de <i>Escherichia coli</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Lactobacillus sakey</i> también exhibe actividad anti fúngica contra s de descomposición de la madera. También se ha demostrado que el compuesto indujo alteraciones morfológicas en <i>Candida albicans</i> y <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . (Wang et al. 2010)
AE4	Geraniol, farnesol, citronel	Amplio espectro de bacterias y virus	En esta planta se han realizado estudios agrotécnicos, de actividad antiinflamatoria, analgésica, antiasmática, diurética, antispasmódica y antimicrobiana, toxicidad y genotoxicidad, entre otros (Ordóñez et al. 2004).
AE5	Anetol, estragol	Bacterias, levaduras y s.	Efectos antibióticos (sobre <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus haemolyticus</i> y <i>Bacillus subtilis</i>) y anti fúngicos (sobre <i>Candida albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. pseudotropicalis</i> y <i>C. krusei</i> , y algunos s del género <i>Aspergillus</i>). (Villar Ruiz de la Torre .et.al, 2010)

TABLA 6. Aceites esenciales provenientes de plantas y sus compuestos antimicrobianos. Fuente (Cabeza 2013)

Por tal motivo, resulta de vital importancia el control de calidad de los mismos, así como el estudio de su composición en función de las condiciones de cultivo de la especie(Sánchez, 2011).

Recientemente en la industria dedicada a la producción de frutas y vegetales existe un considerable interés en los extractos y aceites esenciales derivados de plantas debido a su propiedad de controlar el crecimiento de microorganismos patógenos tales como : *Fusarium sp.*, *Alternaria sp.*, *Aspergillus.*, *Penicillium sp.*, y *Rhizopus*

sp., Que han sido reportados como agentes acusantes de enfermedades producidas por alimentos o descomposición de los mismos (Armando & Unigarro, 2014) .

3.1.3.5.4 Ventajas y Desventajas de Aceites esenciales

Una de las características más importante de los AE es su hidrofobicidad. Esto hace que sean capaces de penetrar a través de las membranas celulares, alterando sus estructuras y haciéndolas más permeables (Carson et al., 2002). La fuga de estos compuestos a bajas concentraciones puede ser tolerada por la célula sin la pérdida de la viabilidad de la misma. Sin embargo, la pérdida excesiva o salida de moléculas críticas pueden llevar a la muerte celular (Denyer y Hugo, 1991) citado por (Sánchez, 2011).

Otra característica principal es su compleja composición química y su carácter fuertemente aromático, aunque evidentemente no todas las plantas contienen estas sustancias y las que lo presentan tienen una concentración tan baja que hace imposible su obtención práctica (Ortuño, 2006). Entre las principales desventajas de los aceites esenciales, es que poseen principios volátiles que se encuentran modificados durante su preparación (González et. al 2011)

Según Martínez (2003), Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre de vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de los alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (saborizantes). Los aceites esenciales generalmente son mezclas complejas de más de 100 componentes que pueden ser: Compuestos alifáticos de bajo peso molecular, monoterpenos, sesquiterpenos y fenil propanos.

Los monoterpenos presentes en aceites esenciales son compuestos que resultan menos perjudiciales que los fungicidas químicos desde el punto de vista ambiental. (Amézqueta et .al, 2005)

4. MARCO LEGAL

DECRETO 3553 DE 2004. «Por el cual se modifica el Decreto 2266 de 2004 y se dictan otras disposiciones». Las modificaciones de las que trata la norma se refieren a las farmacopeas y textos de referencia oficialmente aceptados, clasificación de los productos fitoterapéuticos, expedición del Instrumento de Verificación de Cumplimiento de Condiciones Sanitarias por parte del Ministerio de la Protección Social, un plan gradual de cumplimiento que permita la implementación, desarrollo y aplicación de las Buenas Prácticas de Manufactura, BPM, acciones del Invima por incumplimiento de los fabricantes sobre BPM, controles de calidad de los productos fitoterapéuticos, pruebas de eficacia, expendio de productos fitoterapéuticos, autorización del envase, requisitos para la expedición del registro sanitario de los productos fitoterapéuticos de uso tradicional importados y autoridad sanitaria competente.

DECRETO 4927: Por el cual se modifica el artículo 6 del Decreto 2266 de 2004

Todos los laboratorios que elaboren productos fitoterapéuticos deben presentar dentro de los tres (3) meses siguientes a la expedición del Instrumento de Verificación de Cumplimiento de Condiciones Sanitarias por parte del Ministerio de la Protección Social, un plan gradual de cumplimiento que permita la implementación, desarrollo y aplicación de las Buenas prácticas de Manufactura, de acuerdo a la Resolución 3131 de 1998 o las que rijan en el momento y sean adoptadas por el Ministerio de la Protección Social. El cronograma debe contener las fechas límites anuales de control de cumplimiento, el cual será sujeto de verificación por el INVIMA.

NTC 1252 2003 Esta norma tiene por objeto establecer la clasificación y los requisitos que debe cumplir el cacao en grano, destinado a la industrialización para consumo humano.

NTC 5400 de 2012 Define los requisitos generales y las recomendaciones de buenas prácticas agrícolas para orientar a los productores de frutas, hierbas aromáticas culinarias y hortalizas frescas, tanto para el mercado nacional y el de exportación, como para la agroindustria, con el fin de mejorar las condiciones de la producción agrícola con un enfoque preventivo, en busca de la inocuidad, la competitividad, la seguridad de los trabajadores y el desarrollo sostenible.

NTC 5811 Buenas prácticas agrícolas para cacao. Recolección y beneficio. Requisitos generales

RESOLUCIÓN 698 de 2011 Instituto Colombiano Agropecuario – ICA. El cual posee 19 artículos, por medio de la cual se establecen los requisitos para el registro de

departamentos técnicos de ensayos de eficacia, productores e importadores de bio insumos de uso agrícola y se dictan otras disposiciones.

Artículo 1°. Objeto. Establecer los requisitos para el registro y control de las personas que produzcan, produzcan por contrato, importen y/o realicen ensayos de eficacia, así como para el registro de los bio insumos de uso agrícola.

RESOLUCIÓN 2674 DE 2013 (Julio 22) Por la cual se reglamenta el artículo 126 del Decreto-ley 019 de 2012 y se dictan otras disposiciones. El artículo 126 del Decreto-ley 019 de 2012, establece que los alimentos que se fabriquen, envasen o importen para su comercialización en el territorio nacional, requerirán de notificación sanitaria, permiso sanitario o registro sanitario, según el riesgo de estos productos en salud pública, de conformidad con la reglamentación que expida el Ministerio de Salud y Protección Social.

Que conforme con lo anterior, se hace necesario establecer los requisitos y condiciones bajo las cuales el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (Invima), como autoridad sanitaria del orden nacional, deberá expedir los registros, permisos o notificaciones sanitarias. Notificada a la Organización Mundial del Comercio (OMC), mediante los documentos identificados con las signaturas G/SPS/N/COL/249 y G/TBT/N/COL/191 del 19 y 20 de marzo de 2013.

PROTOCOLO DE CARTAGENA sobre seguridad de la biotecnología del convenio sobre la diversidad biológica: Adoptado el 29 de enero de 2000 como un acuerdo suplementario del convenio sobre la diversidad biológica y entró en vigor el 11 de septiembre de 2003. De conformidad con el principio de precaución, el protocolo de Cartagena tiene por objeto garantizar que el movimiento transfronterizo de organismos vivos modificados resultantes de la biotecnología moderna se haga en condiciones seguras para la conservación de la biodiversidad y la salud humana (Secretaría del Convenio sobre la Diversidad Biológica 2000).

RESOLUCION 000100 DE 2016 Por el cual se establece la cobertura de cultivos del plan de gestión de riesgos agropecuarios para la vigencia 2016, y se dictan otras disposiciones. Considerando que “la producción de alimentos gozara de la especial protección del Estado. Para tal efecto, se otorgara prioridad al desarrollo integral de actividades agrícolas, pecuarias, pesqueras, forestales y agroindustriales, así como también la construcción de obras de infraestructura física y adecuación de tierras.

5. ANTECEDENTES

Diferentes estudios han sido reportados para el control biológico mediante el uso de aceites esenciales para el control de s Fito patógenos y micotoxigenicos.

Licona et al., (2000) en México recopiló las experiencias de 12 años de investigaciones sobre plantas con propiedades anti fúngicas. En el estudio se evaluó alrededor de 296 especies de plantas de diferentes familias, contra 26 especies de s Fito patógenos de diversos géneros, entre los que se destacan *Aspergillus*, *Collecotrichum* , *Fusarium* , *Monilinia* , *Penicillium* , *Phytophthora* .Los resultados indicaron que entre el 32% y 51% de las especies de plantas estudiadas provocaron respuestas en el patógeno, que van desde la estimulación biológica hasta su total inhibición, Por ejemplo el 32% de 74 especies evaluadas inhibió la germinación de esporas de *Uromyces apendiculatus*; en el caso de *Alternaria porri*, de 49 especies estudiadas el 51% mostraron algún efecto sobre el patógeno.

La aplicación de aceites esenciales provenientes de orégano, cilantro (*Coriandrum sativum* L.) y tomillo, entre otros, se han estudiado para controlar s incidentes en post cosecha, *R. stolonifer*, *B. cinerea*, *Alternaria arborescens* Simmons y *Geotrichum candidum* Link. En tomate. Cuando se incorporaron al medio de crecimiento, los aceites de tomillo y orégano mantuvieron una actividad fungicida o fungistática en los cuatro s a 500 mg / l. Los resultados han sido variables, en función del y del tipo de extracto evaluado (Plotto et.al 2003).

En el año 2010 Ramírez y colaboradores determinaron la actividad anti fúngica in vitro de extractos de *Origanum vulgare* L., *Tradescantia spathacea* Swartz y *Zingiber officinale* Roscoe sobre *Moniliophthora roreri*. El hidrolato de *Z. officinale* mostró la mayor eficiencia en el control del crecimiento y desarrollo del patógeno, pues su hidrolato registró la concentración mínima inhibitoria más baja, con un 30% (V/V), y la concentración del 20% inhibió la formación de conidias en un 78%. Si bien los hidrolatos de maguey y orégano registraron su concentración mínima inhibitoria al 50%, a concentraciones inferiores lograron reducir la formación de conidias entre un 94 y un 25% Los resultados demostraron que las tres plantas presentan metabolitos con efectos inhibición sobre el crecimiento y producción de conidios, en cuanto al orégano observaron que pese a que permitió el crecimiento de *M. roreri* en las cuatro concentraciones evaluadas, inhibió la formación de conidios (González et al., 2011).

Arango y colaboradores en 2010 realizaron un estudio sobre la actividad antifungica y la composición química de los aceites esenciales de *Lipia alba* en diferentes regiones de Colombia, encontrando que el aceite era activo contra *A.fumigatus* y *A.flavus* (Mesa-Arango et al., 2010) . En lo que respecta para el aceite de anís, para el año 2013 Duarte y colaboradores determinaron que aceites esenciales de

melaleuca, albahaca y anís inhibieron el crecimiento de *Alternaria porris* un importante patógeno de las solanáceas (Duarte et al., 2013).

En 2014 Arango y colaboradores, evaluaron la actividad in vitro del aceite esencial *Lipia organoides* H.B.K sobre *Phytophthora infestans*, Fito patógeno más perjudicial de la papa, encontrando que una concentración de 150 µg/ml inhibió completamente el crecimiento de patógeno, por lo que lo que esta fue considerada la concentración letal (Bedoya et.al 2014).

Más adelante en 2016 Scalvenzi y colaboradores, evaluaron el efecto de *Citrus limon* y *Cymbopogon citratus*, sobre el crecimiento in vitro de los s fitopatógenos *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus oryzae* *Cladosporium cladosporioides*, *Fusarium solani* , *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora sp.* De acuerdo a los resultados obtenidos los s *A. oryzae*, *C. cladosporioides*, *F. solani*, *M. roreri* y *R. stolonifer* registraron una inhibición del crecimiento del 95%, a la concentración máxima (500 µL/mL). *Phytophthora sp.* registró la inhibición más baja (24%), a la concentración más alta de aceite de *C. citratus* (Scalvenzi et.al 2016).

De manera análoga, Jaimes en 2016, realizó una investigación sobre la efectividad de tres métodos de control de patógenos de cacao entre ellas el uso de aceites esenciales. La investigación permitió determinar que dentro de un amplio número de extractos (15 ensayados), cinco de ellos podrían ser potenciales fungicidas sobre un amplio rango de patógenos del cultivo de cacao. En el estudio realizado se encontró que los aceites obtenidos a partir de especies de *Lipia sp.*, *Eugenol*, *Palmarosa* y *Anise*, exhibieron el mejor efecto fungicida frente a *Moniliophthora roreri*, *Aspergillus flavus*, y *Fusarium solani*, inhibiendo totalmente su crecimiento. Se estableció que el aceite con mayor actividad antifúngica es el eugenol, ya que en este se encontró la concentración más baja (1-5%) con la que hubo inhibición del crecimiento para *M. roreri*, *A. flavus* y *F. solani*, seguido de *Lipia organoides*, y de *L. alba*. Para el aceite de anís el rango se encuentra entre el 5% y el 15% y para palmarosa 15-25% (rango mayor) (Jaimes 2016).

Este antecedente hace que se genere la necesidad de avanzar a una siguiente fase de aplicación *in situ*, ya que los estudios aquí planteados se han elaborado a nivel in vitro.

En el presente año en Colombia, Mena-rodríguez, Ortega-cuadros, Merini, Meloríos, & Tofiño-rivera,(2018) evaluó la aplicación de aceites esenciales y agro insumos en cultivos de ají, frijol y berenjena. In vitro los aceites controlaron hasta el 97% lo de los Fito patógenos, en campo observaron un control de enfermedades hasta el 67%(Mena-rodríguez et al., 2018)

6. METODOLOGÍA

6.1 ENFOQUE

El enfoque de la presente investigación fue mixto (cuali-cuantitativo). Los métodos mixtos representan un conjunto de procesos sistemáticos, empíricos y críticos de investigación e implican la recolección y el análisis de datos cuantitativos y cualitativos, así como su integración y discusión conjunta, para realizar inferencias producto de toda la información obtenida (metainferencias) y lograr un mayor entendimiento del fenómeno bajo estudio. (Sampieri, Collado, Lucio, & Pérez, 2003)

6.2 NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN

La investigación fue de tipo experimental ya que se manipuló la variable independiente siendo esta, el manejo fitosanitario preventivo, para determinar el aumento o disminución de la incidencia y la inhibición de los patógenos aislados a nivel in vitro.

El experimento realizado en campo se llevó a cabo con la influencia del clima y humedad, considerada como variables externas ya que no podemos controlar.

6.3 AREA DE ESTUDIO

Se realizó una investigación descriptiva en una finca cacaotera en el municipio la Esperanza – Norte de Santander (Colombia), coordenadas 8,210°, longitud: - 72,464° a una altura 78 m, temperatura durante el transcurso del año, generalmente varía de 23 °C a 36 °C y rara vez baja a menos de 22 °C o sube a más de 39 °C. La Esperanza tiene una variación considerable de lluvia mensual por estación y una humedad relativa de 85 %. La finca fue muestreada entre agosto de 2017 y mayo de 2018.

En el anexo número 1, se encuentra la carta de permiso del propietario de la finca para la realización de toma de muestras y aplicación de los aceites.

6.4 VALORACIÓN AGROECOLÓGICA DEL CULTIVO

6.4.1. Recolección datos del cultivo

La finca de estudio posee una área cultivada de cacao de 4.5 hectáreas en la cual la medición de la temperatura y humedad relativa se realizó mediante un Termo higrómetro (Halthen Hi precisión), tomando un valor al inicio y final de cada parámetro.

6.5 DETERMINACIÓN PORCENTAJE DE INCIDENCIA DE MONILIASIS Y MAZORCA NEGRA

El cultivo de cacao cuenta con 4.5 Ha cultivadas de diferentes materiales biológicos, con una producción promedio cada seis meses de 1200 kg de cacao. Se tomaron

para el estudio tres clones con cierto grado de tolerancia a enfermedades como lo son: Fear 5, Saravena y Tame. Adicionalmente, se analizó un material biológico denominado ICS 60, el cual por el contrario presenta una alta susceptibilidad al ataque de los mismos. De cada material biológico hay sembrados aproximadamente 300 árboles. El porcentaje de incidencia se refiere a la cantidad de mazorcas enfermas, relacionado con la totalidad de mazorcas analizadas, expresada en porcentaje. Para el cálculo de la incidencia (Ver fórmula 1) se analizó el 10 % de cada uno, tomado de Ayala (2008) con algunas modificaciones.

% Incidencia

$$= \text{Número de mazorcas enfermas} / \text{Número total de mazorcas} * 100$$

Los datos se recolectaron puntualmente el día que realizamos la visita a la finca de análisis.

6.6 AISLAMIENTOS Y CULTIVOS

Los Fito patógenos fueron obtenidos de las mazorcas de cacao exhibiendo los síntomas característicos de cada enfermedad. **Mazorca negra:** Manchas circulares de color café oscuro en la superficie de la mazorca. Frutos momificados (secos) (Rodríguez Polanco, E ; Vera, 2015). **Moniliasis:** frutos jóvenes con protuberancias o gibas, puntos aceitosos, manchas oscuras, crecimiento del área necrosada o mancha (Yeirme - Aranzazu 2010). (Ver FIGURA 5)

6.6.1 CARACTERIZACIÓN MACROSCÓPICA

Para la caracterización morfológica se tuvo en cuenta aspectos como la textura, borde, presencia o ausencia de anillos y color del micelio, según Mannon y Hong, 2008 con algunas modificaciones. El color del micelio se determinó según la carta de color de Munsell (1990) citado por Villamizar et al 2017. La tasa de crecimiento se evaluó midiendo el diámetro de las colonias en tanto *Moniliophthora* y *Phytophthora sp* (Cuervo et.al 2014). Esto fue hecha para un período de incubación de 12 días a 25 ° C durante el cual el crecimiento radial de monitoreo se realizó cada dos días mediante software de libre acceso de Image J.

En cuanto a la velocidad de crecimiento fue medida en mm cada dos días, tomando los diámetros de cada colonia.

6.6.2 CARACTERIZACIÓN MICROSCÓPICA

Para la caracterización microscópica se realizó una coloración simple con agentes diferentes de contraste (safranina y azul de lactofenol). En el caso de *Phytophthora sp*. Para poder realizar la medición de la longitud y el diámetro de los esporangios y zoosporas de medida fueron inducidos a liberarse de por adición de agua

destilada estéril a 4 ° C (Nyassé et al., 1995) citado por (Villamizar R. & Ortiz O 2017).



FIGURA 5. a. Presencia de un polvo color cenizo en los frutos característica de Moniliasis (*Moniliophthora roreri*). b. Pudrición parda de la mazorca en frutos de cacao causada por *Phytophthora sp.* primeros síntomas

Para *Moniliophthora sp.*, se midió la longitud y anchura de esporas individuales y esporas de cadena teniendo en cuenta la presencia o ausencia de esporas esféricas y elipsoidales (Contreras & Riaño, 2013). El registro fotográfico se obtuvo en un Nikon Eclipse 80i microscopio óptico de contraste de fase (100 x) y luego analizados en software de libre acceso de ImageJ

6.6.3 PREPARACIÓN DE CULTIVOS

Se realizó inóculo cada uno de los patógenos aislados previamente incubados a 25 ° C por 8 días en Agua Destilada estéril. A partir de estos cultivos se prepararon los cultivos de trabajo, y fueron ajustados a una concentración de 10^6 a 10^9 esporas/ml.

6.7 ENSAYO DE INHIBICIÓN DE ACEITES ESENCIALES

6.7.1 OBTENCIÓN ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales fueron obtenidos de plantas, estos fueron provistos por la empresa **PROMITEC** “Soluciones Biotecnológicas Naturales que brindan bienestar y salud”, ubicada en la ciudad de Bucaramanga, a la cual el laboratorio NANOSOST le ofrece asesorías técnico-científicas.

6.7.2 EVALUACIÓN DE LOS AGENTES INHIBITORIOS

La composición de los cinco aceites se relaciona en la TABLA XX donde se muestran los rangos de concentración obtenidos previamente por Jaimes 2016, en los cuales se observó efecto inhibitorio.

Aceite esencial	Rango de concentración
AE 1	1-5 %
AE 2	1-5 %
AE 3	0.2-1 %
AE 4	5-10 %
AE 5	5-10%

TABLA 7. Rango modificado de concentraciones mínimas inhibitorias para cinco aceites esenciales. Fuente: (Jaimes et al 2016)

6.7.3 DETERMINACION DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA FUNGICIDA USANDO ACEITES ESENCIALES

Para determinar la CMF se empleó el método de macro dilución en agar reportada por Ponce y colaboradores (Ponce et al, 2003). Se prepararon 100 mL de agar malta (modificado con corteza de cacao) al cual se le adicionó cada uno de los aceites a diferentes concentraciones (0.2 % al 10 %). Las concentraciones fueron ajustadas en función del tipo de aceite y de los rangos previamente analizados por Jaimes et al, 2016. El medio fue plaqueado en cajas de Petri y seguidamente se realizó inoculación por punción directa de los diferentes patógenos (*M. royeri*, y *Phytophthora sp*) con 7 días de incubación. Durante este período de tiempo se determinó el crecimiento de cada patógeno de acuerdo al control. Cada ensayo se realizó por duplicado. La concentración mínima fungicida (CMF) fue tomada como aquella capaz de inhibir completamente el desarrollo fúngico (Ponce et al., 2003).

7. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDAD	MESES											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
I	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
II	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
III	X	X	X	X	X							
IV						X	X					
V							X	X				
VI							X	X				
VII								X	X			
VIII										X	X	
IX												X

DESCRIPCIÓN DE ACTIVIDADES:

I.Revisión Bibliográfica

II.Toma de muestras

III.Aislamiento e Identificación patógenos

IV.Determinación de CMF

V.Determinación de porcentaje de incidencia antes de aplicación

VI.Aplicación de los fungicidas naturales

VII.Seguimiento y Evaluación Análisis de datos

VIII.Divulgación de Resultados

IX.Presentación de Informe Jurados para otorgar el título de Microbióloga

8. RESULTADOS Y DISCUSION

8.1 VALORACIÓN AGROECOLÓGICA DEL CULTIVO

De acuerdo a Fedecacao (2013) los daños ocasionados por la moniliasis y mazorca negra varían con el manejo del cultivo, las condiciones ambientales y la semilla de cacao utilizada. Por esto; es importante tener en cuenta que su impacto es muy variable dentro de los mismos clones o híbridos. En plantaciones ubicadas en zonas húmedas y sin un manejo adecuado del cultivo, es frecuente observar pérdidas superiores al 80%. Sin embargo, bajo condiciones de manejo óptimas, los daños se disminuyen considerablemente a niveles inferiores al 8% (Federación Nacional de Cacaoteros, 2013).

Las variables edafoclimáticas afectan dramáticamente el cultivo de cacao, haciendo que la prevalencia de enfermedades como la moniliasis y la mazorca negra sean predominantes. Se estima que cerca del 40% de toda la producción de cacao se pierde, siendo la moniliasis la enfermedad más prevalente. En la FIGURA 6 se puede observar el porcentaje de incidencia de las dos enfermedades en los diferentes materiales biológicos analizados.

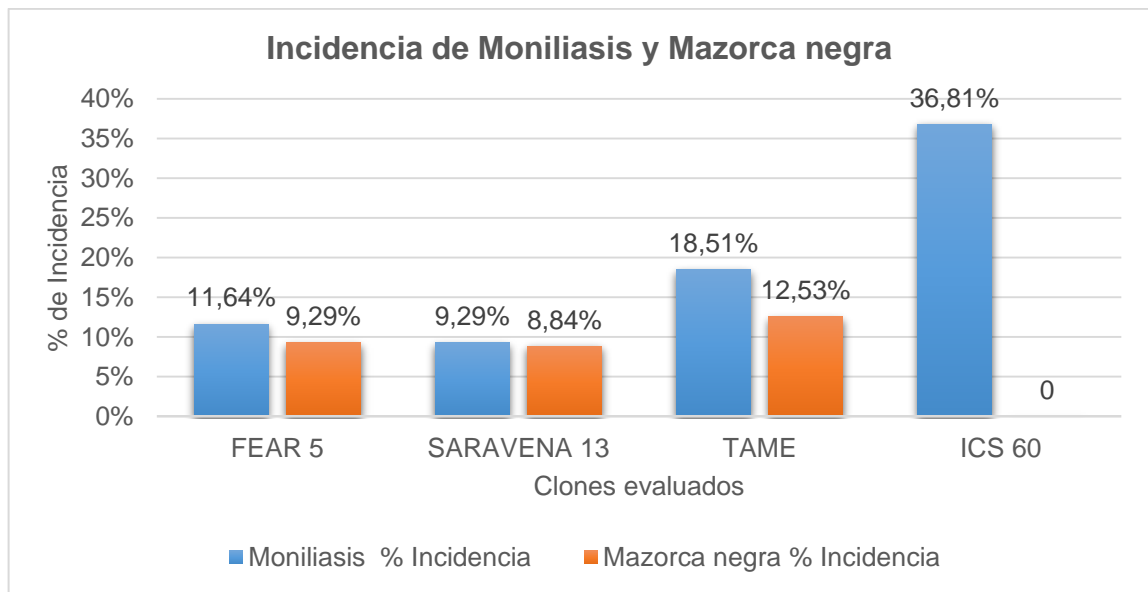


FIGURA 6. Porcentaje de incidencia inicial de moniliasis y mazorca negra en diferentes materiales biológicos de cacao sembrados en la Finca la Esperanza del municipio de Cúcuta, N de S.

La susceptibilidad más representativa es en el clon ICS 60, aunque los materiales ICS son reconocidos por su sabor Trinitario, descrito como un cacao que posee atributos frutales, florales y con sabores secundarios agradables tales como melaza,

caramelo y pasas; Rondon (2000) indico que el clon ICS 60 es tolerante hasta cierta edad, máximo tres años, para luego convertirse en materiales susceptibles. (Rondon , 2000 citado por Erazo, 2014).

Se puede afirmar además, que en el período comprendido entre octubre y diciembre, fue donde se evidencio un aumento de mazorcas enfermas, las cuales presentaban síntomas característicos de las enfermedades analizadas, siendo TAME FT2 el clon más susceptible, Aránzazu, 2014 indica que entre la características que presenta este clon es su sabor especial pero no es resistente a moniliasis y mazorca negra al igual que FEAR 5, donde las condiciones edafoclimaticas favorecieron el crecimiento de Fito patógenos en el mes de octubre solo para este clon . (Ver Figura 7)

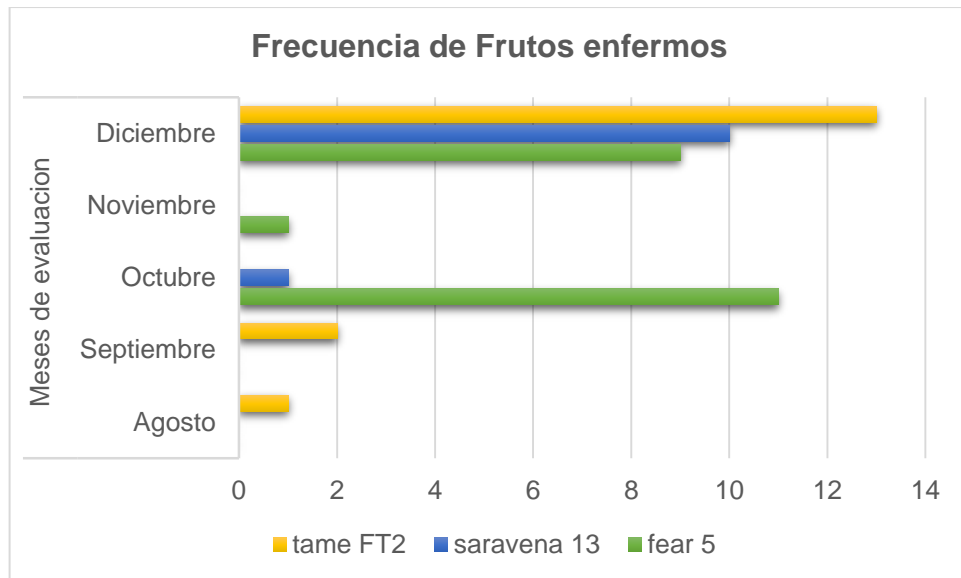


FIGURA 7. Frecuencia de Frutos enfermos con síntomas de Moniliasis y Mazorca negra en los meses de agosto a diciembre en diversos materiales biológicos de cacao

La incidencia de los dos patógenos en todos los materiales biológicos examinados, se encuentra estrechamente relacionado con las condiciones edafoclimaticas del cultivo. Diversos autores han demostrado que la temperatura es el factor de mayor influencia la tasa de crecimiento y desarrollo de *M. rozeri*, debido a que al incrementarse, provoca aumento en la actividad enzimática y química, por lo que se acelera la síntesis de vitaminas, aminoácidos y otros metabolitos, así como también la dispersión de esporas (Fallas, 1983; Schmitz, 1985; Campuzano 1981; Merchán 1981; (Hanada et.al 2009). La misma autora, ratificó que el rango óptimo de temperatura para el desarrollo y la reproducción de monilia es de 24 a 28°C en condiciones in vivo, la cual se encuentra dentro del rango de temperatura

encontrada durante este estudio. En el caso de la mazorca negra al igual que la moniliasis se debe a distintos factores, entre ellos la variación en la temperatura y humedad relativa. En la Figura 7 se logra observar que a finales del año se presentó mayor frecuencia de frutos enfermos. Autores señalan que las condiciones de mal manejo, especialmente el exceso de sombra, mal drenaje y falta de poda que presentan muchas plantaciones, favorecen la presencia de esta enfermedad, sobre todo a fines y comienzos del año cuando se presentan temperaturas más bajas y lluvias frecuentes e intensas. De manera que la enfermedad es más severa y agresiva en períodos húmedos cuando se presentan precipitaciones mal distribuidas mayores de 300 mm mensuales, alta humedad relativa (más del 90 %) y descensos de temperaturas por debajo de 22 °C (Rivera, 2017) . Es importante destacar que para el período de noviembre a diciembre de 2017, el municipio la Esperanza presentó una temperatura media de 30° C a 22° C y una humedad relativa de 91%, condiciones que favorecieron la presencia de la enfermedad.

La humedad no sólo promueve el crecimiento de tejido vegetal nuevo, sino también el incremento de la esporulación de los s, facilita la liberación de esporas y el movimiento de las zoosporas de los oomycetes. La presencia de altos niveles de humedad por tiempos prolongados conduce a epidemias y la presencia de vectores, los cuales ayudan a la diseminación de la enfermedad (Yeirme & Aranzazu, 2010)

8.2 CARACTERIZACIÓN MICROSCÓPICA

8.2.1. *Moniliophthora roreri*

En las colonias *M.roreri* se presentó una leve variabilidad morfológica en cuanto a los tonos de coloración del micelio los cuales se evaluaron con ayuda de la TABLA Munsell (1991). En la FIGURA 8 se puede apreciar los aislamientos.

Las colonias de *M.roreri* tienen una considerable variedad morfológica en cuanto a tonos de coloración del micelio ya que varían del blanco, crema, hasta café. (Phillips et .al 2005) , por lo que se puede indicar que este parámetro no es un marcador morfológico para diferenciar los fenotipos de los aislados.



FIGURA 8. Aislamientos de *M.roreri*. **A.** Aislamiento procedente de clon SARAVENA 13 **B.** Aislamiento procedente de clon FEAR 5 **C.** Aislamiento procedente de clon TAME FTA2. Fuente: Autor

Entre los aislamientos evaluados se halló dos tipos de textura por una parte estriada y por otro lado algodonosa. Estos resultados coinciden con Arbeláez (2010), el cual en su estudio encontró texturas estriadas para aislamientos de *M.roreri*. De igual manera; en la caracterización de este microorganismo, en cuanto al borde se observó un borde uniforme de tipo ondulado. Por otra parte las cepas presentaron una esporulación uniforme con anillos centrales.

8.2.1.1 Velocidad de crecimiento

El crecimiento radial acumulado de *Moniliophthora roreri* presentó un comportamiento ascendente en el tiempo,(Figura 9), similar a los resultados obtenidos por Mosquera (2014) y Villavicencio (2010), quienes encontraron que aislados de *M. roreri* llenaron la caja de 45 mm de radio a los 15 días después de la inoculación.

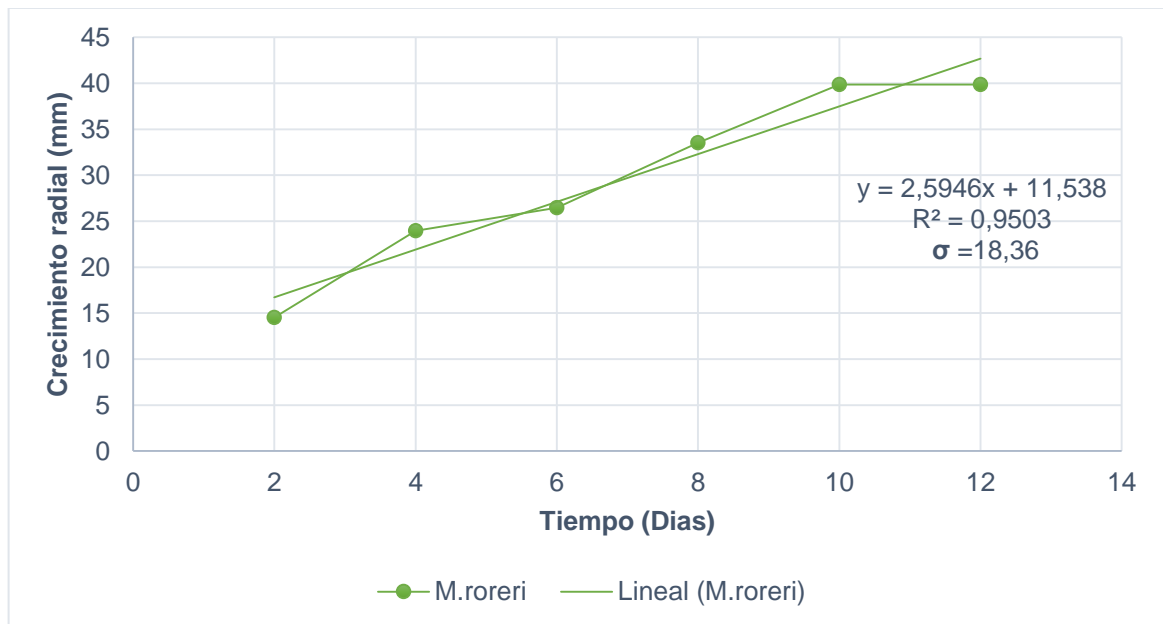


FIGURA 9 .Crecimiento radial de *M.roreri* evaluada tras 12 días.

8.2.1.2 Forma y tipo de esporas

En todos los aislamientos se encontró una combinación de esporas elipsoides. Estos resultados concuerdan con lo reportado por algunos autores Arbeláez (2010), en cuyas investigaciones llevaron a determinar que en el predominan las esporas de tipo globoso, sin embargo se pueden presentar esporas ovoides o elipsoides. (Ver figura 10).

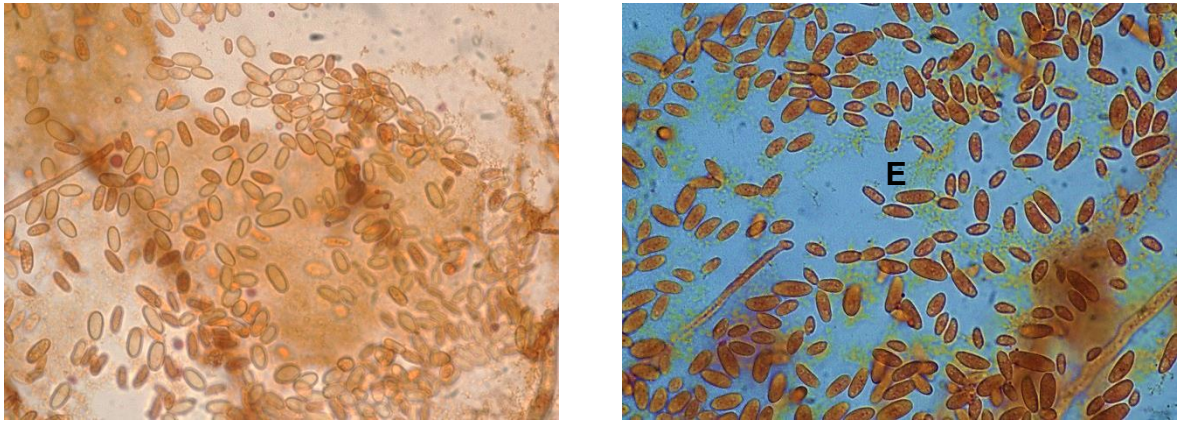


FIGURA 10. Tipos de esporas encontrados en *M.roreri*, en donde se destaca un tipo elipsoide (E). Microfotografía con una magnificación de 100x. Fuente: Autor

El tamaño de las esporas elipsoides demostraron una relación de longitud que oscilo entre 2,2 μm x 4,5 μm de largo coincidiendo con los valores de tamaño para *M.roreri* reportado por Alberaez (2010). Con esta variable no se encontraron diferencias significativas entre los clones evaluados.

8.2.2 *Phytophthora sp.*

Las colonias características de *Phytophthora sp.* mostraron un crecimiento arrosetado bien definido coincidiendo con los resultados de González, Celina Torres (2015) quien logro identificar dos aislamientos de *Phytophthora sp* empleando el medio PDA. En la FIGURA 11 se logra apreciar los aislamientos del microorganismo en agar Malta modificado con extracto de cascara de cacao.

(Perez et.al 2010), observaron el crecimiento típico de la colonia, micelio aéreo, con patrones de crecimiento radiales o ligeramente estrellado, los bordes de la colonia son de forma redondeada. Sin embargo, es importante tener en cuenta que el aspecto morfológico y el desarrollo de aislamientos de *P. palmivora* está condicionado además del medio de cultivo, por la temperatura y la luminosidad.

8.2.2.1 Forma y tipo de esporas

En los aislamientos se logró identificar esporangios (E*) ovoides no muy alargados alimonados y regularmente papilados con un promedio de 29,3 μm de largo y 14 μm de ancho, y oogonios (O) con un diámetro de 9 μm . Es importante señalar que las diferencias existentes entre las dimensiones de los zoosporangios que se registraron en el presente estudio y las publicadas pueden atribuirse a su origen in vitro. En la Figura 12 se puede apreciar las estructuras microscópicas de los aislamientos fúngicos.



FIGURA 11. Características morfológicas del aislamiento de *Phytophthora sp.* Crecimiento de las colonias 7 días después de la siembra en Agar Malta modificado con extracto de corteza de cacao. Fuente: Autor

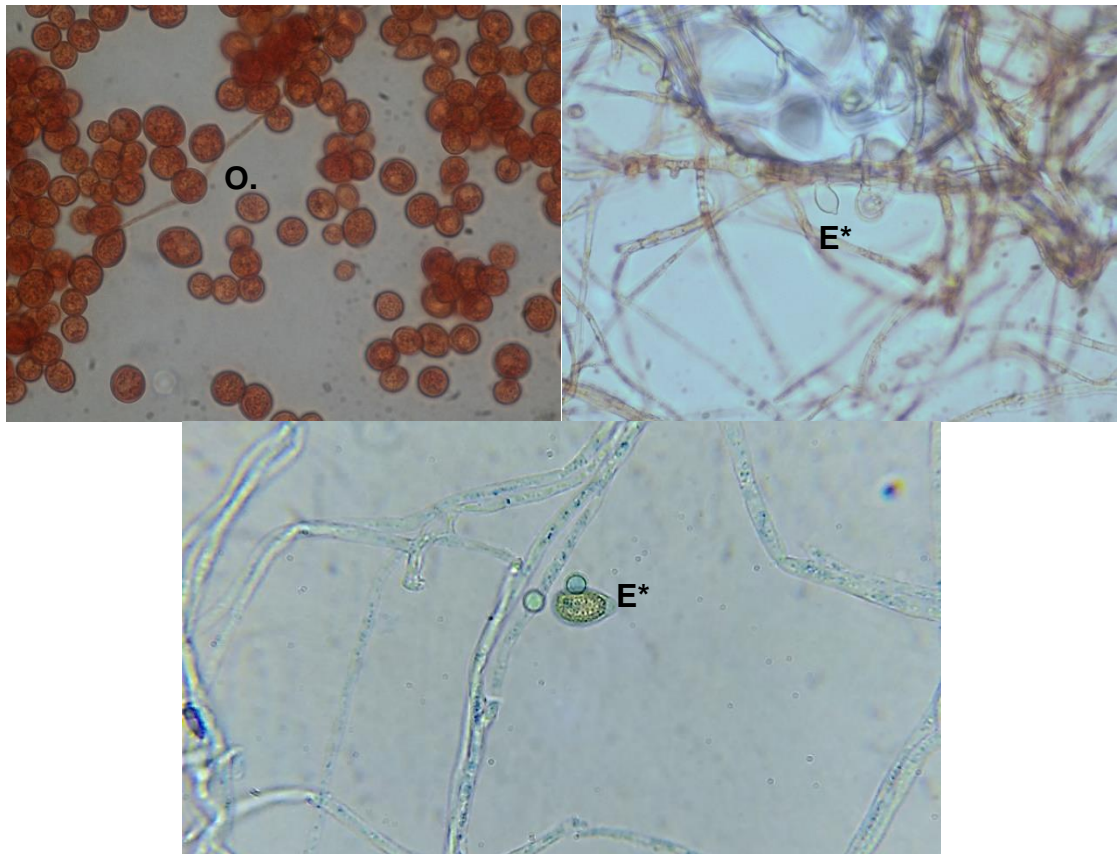


FIGURA 12. Estructuras reproductivas de las cepas aisladas *Phytophthora sp.*, esporangio (E*) y oosporas (O). Microfotografía con una magnificación de 100x.

8.2.2.2 Velocidad de crecimiento

El crecimiento radial acumulado de *Phytophthora sp* presentó un comportamiento ascendente en el tiempo, (Figura 13), similar a los resultados obtenidos por; (Pinilla, 2017) donde *P.palmivora* registró un crecimiento radial diario de 6,57 mm, con características morfológicas de la colonia similares a las observadas en este estudio.

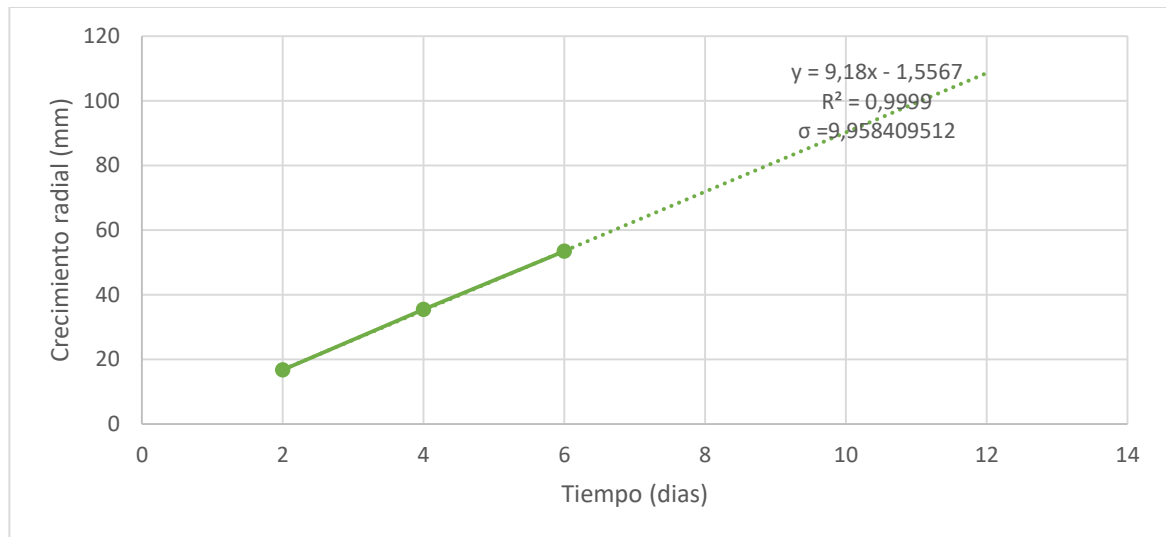


FIGURA 13. Crecimiento radial de *Phytophthora sp* evaluada tras 6 días

8.3 ENSAYO CON ACEITES ESENCIALES

Dentro de los métodos tradicionales para el control de enfermedades se encuentran los fungicidas de síntesis química, ampliamente utilizados, así mismo se han buscado nuevas alternativas de solución dentro de las cuales se encuentran el control cultural, que consiste en la remoción de frutos enfermos, podas sanitarias y remplazo de árboles susceptibles por medio de enjertación y clonación, pero con resultados que no son completamente efectivo. Y es allí donde los aceites esenciales demuestran resultados prometedores por la capacidad que poseen las plantas de sintetizar metabolitos secundarios con actividad fungicida.

Las lecturas de las pruebas de CMF (Concentración mínima inhibitoria) se realizaron a los ocho días para todas las cepas, verificando en primer lugar que los resultados obtenidos con los controles fueran los esperados; esto es, que el control negativo estuviera completamente transparente y en el control positivo hubiera suficiente crecimiento.

Para los aceites ensayados, se encontró que la actividad antimicrobiana fue dependiente de la concentración. La mayoría demostró que a bajas concentraciones

se producían cambios en el crecimiento fúngico. En la TABLA 9 se logra observar el efecto anti fúngico de AE1 con una CMF para *M.roreri* y *Phytophthora sp* de 40 mg/ml ya que no se evidencio crecimiento a partir de esta concentración

Aceite esencial	CMF	
	<i>M.roreri</i>	<i>Phytophthora sp</i>
AE1	40mg/ml	40mg/ml
AE2	40mg/ml	40mg/ml
AE3	Sin efecto	Sin efecto
AE4	7 mg/ml	6 mg/ml
AE5	6 mg/ml	6 mg/ml

TABLA 8. Concentración mínima fungicida (CMF) frente a cada Fito patógeno evaluado.

El mecanismo de acción de los aceites esenciales sobre s se le atribuye a sus propiedades antioxidantes, relacionadas con compuestos fenólicos , carvacrol y el timol que pueden ser utilizados bajo ciertas condiciones como fungicidas y bactericidas para evitar el crecimiento micelial de Fito patógenos (Armando & Unigarro, 2014). El crecimiento micelial del fitopatógeno *in vitro* con el AE1 se puede explicar por el carácter ácido que afecta la permeabilidad de la membrana celular donde el contenido de Timol (60,3%) causa problemas en el intercambio de iones calcio, fosforo y magnesio (Fernández-Larrea, 2001). Según Márquez, R.L., De La Rosa, C. y Mercado,(2007) el porcentaje de inhibición deber ser mayor al 20% para demostrar que se detiene el crecimiento de los s. Para este estudio se presenta un porcentaje de inhibición de *M.roreri* de 100% evaluado durante ocho días. Este porcentaje corresponde a niveles de inhibición altos en comparación con lo que reporta Márquez et.al (2007).

(Lozada et al., 2012), inhibieron 100% de la germinación y crecimiento micelial de *M.roreri*, cuando utilizaron concentraciones de 800 - 1000 µg/ml coincidiendo con el porcentaje de inhibición en este estudio , aunque se evidencia una diferencia en la concentración de A. E, ya que en este estudio se aprecia una concentración de aceite de 40mg/ml para *M.roreri*.

Resultados similares han sido reportados por Bedoya A y colaboradores, quienes evaluaron la actividad anti fúngica de aceites esenciales sobre *P.infestans* y encontraron que una concentración de 150 µg/ml inhibió completamente el crecimiento micelial del patógeno, siendo inferior a la concentración de aceite esencial en el presente estudio (Arango Bedoya et al., 2014).

Los mecanismos de acción de los monoterpenos como el timol o carvacol, no han sido explicados por completo, sin embargo Marei y colaboradores, (Marai et al,

2012) suponen que, como agentes lipolíticos, estos ejercen una acción sobre la membrana y las enzimas presentes en ella.

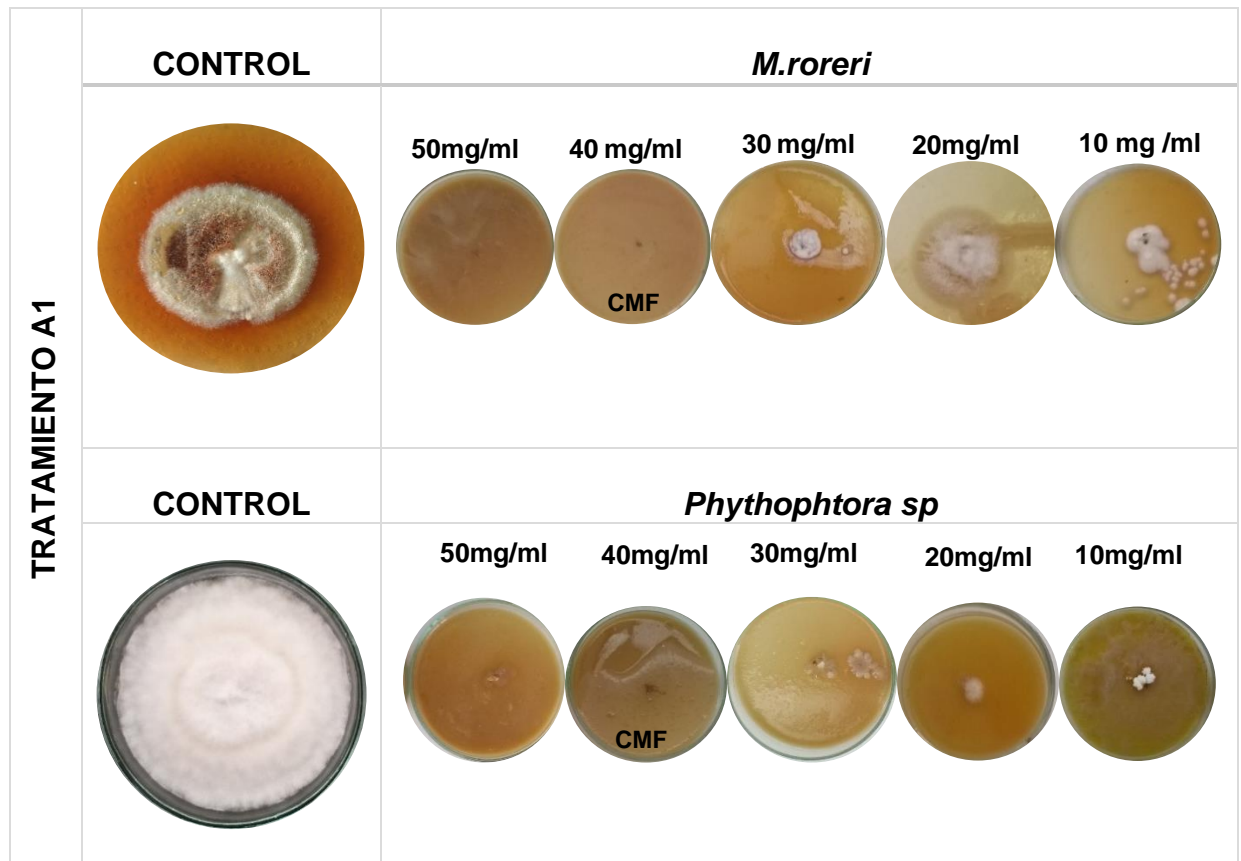


TABLA 9. Concentraciones mínimas fungicidas de **A1** frente a *M.roreri* y *Phytophthora sp*,

El timol es un potencial inhibidor de la pectin metil esterasa, enzima que modifica el grado de metil-esterificación de las pectinas, los cuales son los principales componentes de las paredes celulares de los s, lo que provoca cambios en la adhesión celular, la plasticidad, el pH y el contenido iónico de esta pared celular e influye en la permeabilidad e integridad de la membrana. Numpaque et.al (2011) consideran que el carvacrol (isómero del timol) puede ejercer una actividad como intercambiador de protones, al reducir el gradiente de pH a través de la membrana citoplasmática, lo que ocasiona un colapso en la fuerza motriz de protones y la muerte celular.

En cuanto a la inhibición del AE2 demostró una similitud con *AE1* para *M.roreri* y *Phytophthora sp* siendo igual su CMF de 40mg/ml (Ver Tabla 10). Estos resultados difieren ligeramente de lo obtenido por Lozada et al (2012) quienes obtuvieron

rangos de inhibición de diferentes aceites esenciales en el rango de 800 µg/ml con una inhibición 53.43% para *M.roreri* . Lo que indica que aumentar la concentración logra inhibir por completo el Fito patógeno. Una característica de este aceite es que la composición de su aceite varía según las condiciones climáticas y ambientales de la región donde se originó la planta, lo que permite diferenciar varios quimiotipos (Ardizzoli, 2015).



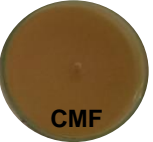





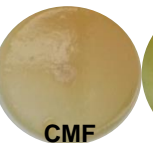



TRATAMIENTO A2	CONTROL	<i>M.roreri</i>				
		50mg/ml	40mg/ml	30mg/ml	20mg/ml	10mg/ml
						
	CONTROL	<i>Phytophthora sp</i>				
	50mg/ml	40mg/ml	30mg/ml	20mg/ml	10mg/ml	
						

TABLA 10.Concentraciones mínimas fungidas de A2 frente a *M.roreri*, *Phytophthora sp*

En la TABLA 11 se logra observar el efecto anti fúngico del aceite esencial *AE3*. Las concentraciones mínimas fungidas se establecieron a partir de 10mg/ml a 2mg/ml frente a cada fitopatógeno aislado. Se pudo evidenciar que ninguna de las concentraciones logró un efecto inhibitorio en *M.roreri* y *Phytophthora sp*. Hassani et al.(2012) condujeron experimentaciones con diversos aceites esenciales entre ellos el *AE3* aplicados por atomización para controlar el crecimiento de mohos de chabacano, inoculado con *M.fructicola* y *B.cinerea*, durante almacenamiento pos cosecha, requiriendo concentraciones de 600µ/L para poder eliminar el crecimiento fúngico.






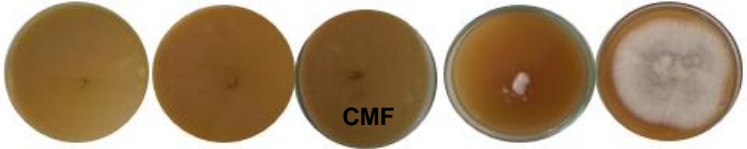


TRATAMIENTO AE3	CONTROL	<i>M.roreri</i>				
		10 mg/ml	8 mg/ml	6 mg/ml	4 mg/ml	2 mg/ml
						
		CMF = NO SE PRESENTA				
		<i>Phytophthora sp</i>				
		10 mg/ml	8 mg/ml	6 mg/ml	4 mg/ml	2 mg/ml
						
		CMF = NO SE PRESENTA				

TABLA 11 Concentraciones mínimas fungicidas de A3 frente a *M.roreri*, *Phytophthora sp*

AE4 es una hierba perenne, ampliamente distribuida en regiones tropicales y subtropicales. Contiene aceites esenciales, cuyos componentes principales son geraniol y acetato de geraniol (Pinzon et.al 2014). Wilson et al.al. (1997) citado por (Hillen et al., 2012) comprobaron que los aceites esenciales derivados de esta planta inhibieron totalmente la germinación de esporas de *Botrytis cinerea*, incluso en bajas concentraciones del aceite, como 39mg/ml y 62,5mg/ml, respectivamente. Los resultados anteriores coinciden con este estudio en cuanto a la inhibición total de los fitopatógenos aunque las concentraciones variaron, ya que se logra apreciar que el crecimiento de *M.roreri* es inhibido en una concentración de AE de 70mg/ml para el caso de *Phytophthora sp* 60mg/ml

TRATAMIENTO AE4	CONTROL	<i>M.roreri</i>				
		100mg/ml	80mg/ml	70 mg/ml	60 mg/ml	50 mg/ml
						
	CONTROL	<i>Phytophthora sp</i>				
	100mg/ml	80mg/ml	70 mg/ml	60 mg/ml	50 mg/ml	
						

CMF

TABLA 12. Concentraciones mínimas fungicidas de A4 frente a *M.roreri*, *Phytophthora sp*.

En la Tabla 13 se logra observar el efecto anti fúngico del AE5 para *M.roreri* y *Phytophthora sp* fue del 60mg/ml ya que no se evidenció crecimiento a partir de esta concentración. (Duarte et al., 2013), determinaron la actividad anti fúngica in vitro de diez aceites esenciales dentro del cual se incluye AE5 sobre *Alternaria solani* Sorauer, importante patógeno de las solanáceas. A los 14 días se observó inhibición total en los tratamientos con los aceites, coincidiendo de esta forma con los resultados obtenidos en la presente investigación.

Se evidenció que el efecto inhibitor sobre la velocidad de crecimiento fue diferente para cada aceite, aunque existió una tendencia a que la mayor acción biológica se manifieste durante los primeros 4 días de exposición. Este comportamiento pudiera estar asociado a la cinética de evaporación del aceite que conlleva a una mayor concentración de vapores durante el período inicial de evaluación. Otro aspecto que pudiera influir, son los cambios en el tiempo de la composición cuantitativa de los compuestos bioactivos en la fase vapor de los aceites.

Los resultados obtenidos se relacionan con las características de los aceites esenciales como sustancias volátiles que producen un efecto biológico a corto plazo

y poseen baja residualidad (Isman, 2006). Estudios posteriores deberán profundizar en el modo de acción de estos aceites esenciales y sus componentes para definir las causas del efecto observado en cada caso. Los estudios de modo de acción de aceites esenciales en s son escasos, entre los existentes se refiere a que el efecto anti fúngico de algunos productos naturales está asociado a afectaciones en la síntesis de la pared de las hifas(Pawar & Thaker, 2007).





TRATAMIENTO A5	CONTROL	<i>M.roreri</i>				
		100mg/ml	80mg/ml	70 mg/ml	60 mg/ml	50 mg/ml
						
	CONTROL	<i>Phytophthora sp</i>				
	100mg/ml	80mg/ml	70 mg/ml	60 mg/ml	50 mg/ml	
						

TABLA 13.Concentraciones mínimas fungidas de A5 frente a *M.roreri*, *Phytophthora sp*

9. CONCLUSIONES

- 1- Las condiciones agroecológicas de la finca evaluada son aptas para el cultivo de *Theobroma cacao L.*
- 2- La enfermedad con mayor incidencia en la finca analizada es la moniliasis siendo el material biológico ICS 60 el más susceptible ante esta enfermedad fúngica
- 3- Se logró caracterizar los patógenos responsables de las dos enfermedades y las cepas fueron enviadas al centro de Investigación en Cacao en San Vicente de Chucurí, donde se está realizando confirmación de las mismas para su posterior depósito en el banco de cepas de Fedecacao.
- 4- De los cinco aceites evaluados los tratamientos, el aceite AE1 y AE2 fue el más efectivo a la hora de inhibir el crecimiento fúngico con una baja concentración.

10. BIBLIOGRAFIA

- Alvim, P. de T. (2007). Eco-physiology of the cacao tree. *Conference Internationale Sur Les Recherches Agronomiques Cacaoyeres*, 19(i), 23–35.
- Amézqueta, S., González-Peñas, E., Murillo, M., & López de Cerain, A. (2005). Occurrence of ochratoxin A in cocoa beans: Effect of shelling. *Food Additives and Contaminants*, 22(6), 590–596. <https://doi.org/10.1080/02652030500130160>
- Arango Bedoya, O., Hurtado Benavides, A. M., Pantoja Daza, D., & Santacruz Chazatar, L. (2014). Actividad inhibitoria del aceite esencial de Lipia organoides H.B.K sobre el crecimiento de Phytophthora infestans. *Acta Agronomica*, 64(2). <https://doi.org/10.15446/acag.v64n2.42964>
- Ardizzoli, K. D. (2015). 2015 | Tesis de maestría Facultad de Medicina Universidad Nacional del Nordeste Maestría en Micología Médica Magister : - Bioq . Ardizzoli , Karina Daniela Director de Tesis : - Ing . Agr . Lori , Gladys Albina - Bioq . Santiso , María Gabriela.
- Armando, E., & Unigarro, R. (2014). Formulacion de un biofungicida a partir de una emulsion con aceite esencial del oregano silvestre (lipia organoides H.B.K) frente al fitopatógeno Fusarium oxysporum f.sp.pisi CAUSANTE DE MARCHITEZ VASCULAR DE ARVEJA (Pisum Sativum L).
- Benson, D. M. (1997). Phytophthora diseases worldwide. *Crop Protection*, 16(4), 399. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(97\)83220-6](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(97)83220-6)
- Bowers, J. H., Bailey, B. A., Hebbar, P. K., Sanogo, S., & Lumsden, R. D. (2001). The Impact of Plant Diseases on World Chocolate Production. *Plant Health Progress*, 1650–1653. <https://doi.org/10.1094/PHP-2001-0709-01-RV>
- Cely Torres, L. A. (2017). Oferta productiva del cacao colombiano en el posconflicto. Estrategias para el aprovechamiento de oportunidades comerciales en el marco del acuerdo comercial Colombia-Unión Europea. *Productive Supply of Colombian Cocoa in the Post Conflict Context. Strategies to Make the Most of Trade Oportunities under the Colombia-European Union Trade Agreement.*, (28), 167–195. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.19052/ed.4211>
- Clement, C. R., de Cristo-Araújo, M., d'Eeckenbrugge, G. C., Pereira, A. A., & Picanço-Rodrigues, D. (2010). *Origin and domestication of native Amazonian crops. Diversity* (Vol. 2). <https://doi.org/10.3390/d2010072>
- Condor, F.; Marcillo, V. & Jiménez, L. (2015). Departamento de ciencias de la vida y de la agricultura. *Determinación De Metales Pesados En Miel De Abeja Para Su Evaluación Como Indicador Ambiental En Zonas Contaminadas, En La Provincia De Pichincha-Ecuador.*

- Contreras, L. Y. S., & Riaño, A. L. R. (2013). Aislamiento de microorganismos para control biológico de moniliophthora roreri. *Acta Agronomica*, 62(4), 370–378.
- Cuervo Parra J.A , Sanchez-Lopez V, Romero Cortes T, R. L. M. (2014). Hypocrea/Trichoderma viridescens ITV43 with potential for biocontrol of Moniliophthora roreri Cif Par, Phytophthora megasperma and Phytophthora capsici. *African Journal of Microbiology Research*, 8(16), 1704–1712. <https://doi.org/10.5897/AJMR2013.6279>
- Duarte, Y., Pino, O., Infante, D., Sánchez, Y., Travieso, C., & Martínez, B. (2013). Efecto in vitro de aceites esenciales sobre Alternaria solani Sorauer Ya n i s i a Duarte, Ori e la Pino, D a n a y l n f a n t e , Ya i m a S á n c h e z, M a r í a d e l C a r m e n Tra v i e s o , B. Martínez. *Rev. Protección Veg*, 28(1), 54–59.
- Erazo, X. A. R. (2014). DIVERSIDAD GENÉTICA DE CACAO Theobroma cacao L. CON MARCADORES MOLECULARES MICROSATÉLITES.
- Espinal G, C. F., Martínez C, H. J., & Peña M, Y. (2005). Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural Observatorio Agrocadenas Colombia Documento de Trabajo No . 61. *Min. Agricultura Y Desarrollo Rural, Obs. Agrocadenas Colombia*, (58), 40.
- Evans, H. C., Holmes, K. A., & Reid, A. P. (2003). Phylogeny of the frosty pod rot pathogen of cocoa. *Plant Pathology*, 52(4), 476–485. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2003.00867.x>
- Federación Nacional de Cacaoteros. (2013). Guía ambiental para el cultivo del cacao, 1–126.
- Fernández-Larrea, O. (2001). Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Manejo Integrado De Plagas (Costa Rica)*, (62), 96–100. <https://doi.org/10.1080/09583150310001517992>
- FHIA. (2003). Identificación y control de la moniliasis del cacao.
- González, Celina Torres, N. A. C. C. (2015). Morphological and Molecular Characterization of Phytophthora in Peper (Capsicum frutescens var . Tabasco), Valle del Cauca Caracterización morfológica y molecular de Phytophthora en ají (Capsicum frutescens var . Tabasco), Valle del Cauca, (2).
- González, S. R., Báez, O. L., Hernández, T. G., Ulloa, S. M., & Zaragoza, S. E. (2011). Actividad antifúngica in vitro de extractos de Origanum vulgare L., Tradescantia spathacea Swartz y Zingiber officinale Roscoe sobre Moniliophthora roreri (Cif & Par) Evans et ál. *Tecnología En Marcha*, 24(2), 3. Retrieved from http://www.tec-digital.itcr.ac.cr/servicios/ojs/index.php/tec_marcha/article/view/137
- Hanada, R. E., Pomella, A. W. V, Soberanis, W., Loguercio, L. L., & Pereira, J. O.

- (2009). Biocontrol potential of *Trichoderma martiale* against the black-pod disease (*Phytophthora palmivora*) of cacao. *Biological Control*, 50(2), 143–149. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.04.005>
- Hassani, A., Fathi, Z., Ghosta, Y., Abdollahi, A., Meshkatsadat, M. H., & Marandi, R. J. (2012). Evaluation of plant essential oils for control of postharvest brown and gray mold rots on apricot. *Journal of Food Safety*, 32(1), 94–101. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2011.00353.x>
- Hebbar, P. K. (2007). Cacao Diseases : Important Threats to Chocolate Production Worldwide Cacao Diseases : A Global Perspective from an Industry Point of View. *Phytopathology*, 97(12), 1658–1663. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-12-1658>
- Hillen, T., Schwan-Estrada, K. R. F., Mesquini, R. M., Cruz, M. E. S., Stangarlin, J. R., & Nozaki, M. (2012). Atividade antimicrobiana de ??leos essenciais no controle de alguns fitopat??genos f??ngicos in vitro e no tratamento de sementes. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 14(3), 439–445. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722012000300003>
- Isman, M. B. (2006). Botanical Insecticides, Deterrents, and Repellents in Modern Agriculture and an Increasingly Regulated World. *Annual Review of Entomology*, 51(1), 45–66. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.151146>
- Jhon Jairo Alarcon - Emilio Arevalo - Ana Luisa Diaz- Jose Roberto Galindo - Alfonso Rosero. (2012). Manejo fitosanitario del cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L) Medidas para la temporada invernal. *ICA-Ministerio de Agricultura Y Desarrollo Rural*, 43.
- Cruz Karla Johanda. (2016). Evaluación del efecto antibacteriano de aceites esenciales sobre *Staphylococcus aureus* METICILINA RESISTENTE. Universidad de Pamplona
- Lara, A. L. (2009). Comportamiento de cuatro heteroinjertos (HIB) de Tomate frente a la enfermedad de la gota producida por *Phytophthora infestans* De Bary, 1–62.
- Licona, G., Domínguez, Z., Luna, B., Torres, B., Moctezuma, F., Elizabet, H., ... E-mail, C. P. C. (2000). Propiedades Antifúngicas en Plantas Superiores . Análisis Retrospectivo de Investigaciones.
- Lozada, B. S., Herrera, L. V., Perea, J. A., Stashenko, E., Y, & Escobar, P. (2012). Efecto in vitro de aceites esenciales de tres especies de *Lipia* sobre *Moniliophthora roreri* (Cif. y Par.) Evans et al., agente causante de la moniliasis del cacao (*Theobroma cacao* L.), 2, 102.
- Marei, G. I. K., Abdel Rasoul, M. A., & Abdelgaleil, S. A. M. (2012). Comparative

antifungal activities and biochemical effects of monoterpenes on plant pathogenic fungi. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 103(1), 56–61. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.03.004>

- Marquina, J. T., Llamas, D. P., de Cara Garcia, M., Mundo, J. M. V., Zavala, O. M., Olmos, C. R., ... Rodríguez, C. G. (2011). Notas para la interpretación de la utilidad de los análisis para fitopatógenos en suelos y sustratos para usos agrícolas. *Terralia*, 80, 32–42. Retrieved from <http://oa.upm.es/12105/>
- Mena-rodríguez, E., Ortega-cuadros, M., Merini, L., Melo-ríos, A. E., & Tofiño-rivera, A. (2018). Efecto de agroinsumos y aceites esenciales en el suelo de hortalizas en el Caribe colombiano Effect of agricultural inputs and essential oils on the soil of vegetables in Colombia ' s Caribbean region Efeito de agroinsumos e óleos essenciais no solo de ho, 19(1), 103–124.
- Mesa-Arango, A. C., Betancur-Galvis, L., Montiel, J., Bueno, J. G., Baena, A., Durán, D. C., ... Stashenko, E. E. (2010). Antifungal activity and chemical composition of the essential oils of *Lippia alba* (mill.) n.e brown grown in different regions of colombia. *Journal of Essential Oil Research*, 22(6), 568–574. <https://doi.org/10.1080/10412905.2010.9700402>
- Motamayor, J. C., Lachenaud, P., da Silva e Mota, J. W., Loor, R., Kuhn, D. N., Brown, J. S., & Schnell, R. J. (2008). Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L). *PLoS ONE*, 3(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003311>
- Motamayor, J. C., Risterucci, A. M., Lopez, P. A., Ortiz, C. F., Moreno, A., & Lanaud, C. (2002). Cacao domestication I: The origin of the cacao cultivated by the Mayas. *Heredity*, 89(5), 380–386. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800156>
- Naciones Unidas. (2017). Informe de los Objetivos de Desarrollo Sostenible, 64. <https://doi.org/978-92-1-058261-2>
- Naciones Unidas.. (2012). El Futuro que queremos, 38167, 1–59.
- Numpaque, M.A., Oviedo, L.A., Gil, J.H., García, C.M., Durango, D. L. (2011). Thymol and carvacrol: biotransformation and antifungal activity against the plant pathogenic fungi *Colletotrichum acutatum* and *Botryodiplodia theobromae*. *Trop. Plant Pathol.*, 36(1), 3–13. <https://doi.org/10.1590/S1982-56762011000100001>
- Oliveros, D., & Pérez, S. (2013). Medición de la competitividad de los productores de cacao en una región de Santander–Colombia. *Revista Le Bret*, 5, 243–267. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15332/rl.v0i5.832>
- Osorio-Guarín, J. A., Berdugo-Cely, J., Coronado, R. A., Zapata, Y. P., Quintero, C.,

- Gallego-Sánchez, G., & Yockteng, R. (2017). Colombia a Source of Cacao Genetic Diversity As Revealed by the Population Structure Analysis of Germplasm Bank of *Theobroma cacao* L. *Frontiers in Plant Science*, 8(November), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01994>
- Osorio-Solano, C., Orozco-Castaño, C. A., López-Gartner, G. A., & Rivera-Páez, F. A. (2012). Variabilidad genética de *moniliophthora perniciososa* (Stahel) aime y phillips-mora, comb. nov. (Agaricales - Marasmiaceae) en variedades de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Acta Agronomica*, 61(2), 93–101.
- Ospina, D., Alvarez, V., Torres, H., Sánchez, M., & Bonilla, C. (2011). In vitro evaluation of the inhibitory activity of essential oils from *Lipia organoides* H . B . K . on mycelial growth and sclerotial production of *Sclerotium cepivorum* Berk . *Acta Agronómica*, 4(60), 306–310.
- Pabón, M., Herrera-Roa, L., & Sepulveda, W. (2016). Caracterización socio-económica del cultivo de cacao en el departamento de Santander (Colombia). *Revista Mexicana de Agronegocios*, 38, 283–294.
- Palmucci, H. E. (2015). Caracterización De Especies Fitopatógenas De En Cultivos Ornamentales Del Cinturón Verde La Plata-Buenos Aires Y Otras Áreas Y Director : Ing . Agr . Silvia Wolcan Codirector : Dra Mónica Steciow, 448.
- Pawar, V. C., & Thaker, V. S. (2007). Evaluation of the anti-*Fusarium oxysporum* f. *sp* cicer and anti-*Alternaria porri* effects of some essential oils. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(8), 1099–1106. <https://doi.org/10.1007/s11274-006-9339-6>
- Perez, M. I., Peñaranda, L. F., & Herazo, M. M. (2010). Impacto, manejo y control de enfermedades causadas por *Phytophthora palmivora* en diferentes cultivos., 13–23.
- Phillips-Mora, W., Aime, M. C., & Wilkinson, M. J. (2007). Biodiversity and biogeography of the cacao (*Theobroma cacao*) pathogen *Moniliophthora roreri* in tropical America. *Plant Pathology*, 56(6), 911–922. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01646.x>
- Phillips-Mora, W., Castillo, J., Krauss, U., Rodríguez, E., & Wilkinson, M. J. (2005). Evaluation of cacao (*Theobroma cacao*) clones against seven Colombian isolates of *Moniliophthora roreri* from four pathogen genetic groups. *Plant Pathology*, 54(4), 483–490. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01210.x>
- Pinilla, A. M. G. (2017). Evaluación de aislamientos de *Trichoderma sp.* para el control de *Phytophthora palmivora* agente causante de la pudrición del cogollo de la palma de aceite. corporación universitaria minuto de dios facultad de ingeniería ingeniería agroecológica Bogotá D.C, Colombia.

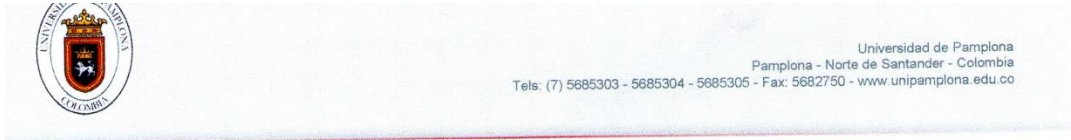
- Pinzón-Torres, J. ., Porras, N. J. ., García, D. C. ., Morales, J. R. ., & Stashenko, E. (2014). Green biomass production and quality of essential oils of pal- marosa (*Cymbopogon martini* (Roxb .) Will . Watson) with apli- cation of synthesis fertilizers and organic fertilizers Resumen. *Acta Agronómica*, 63(4), 335–342. <https://doi.org/10.15446/acag.v63n4.42840>
- Plotto, A., Roberts, D. D., & Roberts, R. G. (2003). Evaluation of Plant Essential Oils as Natural Postharvest Disease Control of Tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Proc. XXVI IHC - Issues and Advances in Postharvest Horticulture*, 737–745. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.628.93>
- Pokou, N. D., N'Goran, J. A. K., Kébé, I., Eskes, A., Tahí, M., & Sangaré, A. (2008). Levels of resistance to Phytophthora pod rot in cocoa accessions selected on- farm in Côte d'Ivoire. *Crop Protection*, 27(3–5), 302–309. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2007.07.012>
- Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food Science and Technology*, 36(7), 679–684. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00088-4](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00088-4)
- Ramírez Gil, J. G. (2016). Pérdidas económicas asociadas a la pudrición de la mazorca del cacao causada por *Phytophthora sp.*, y *Moniliophthora roreri* (Cif y Par) Evans et al., en la hacienda Theobroma, Colombia. *Revista de Protección Vegetal*, 31(1), 42–49. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522016000100006
- Raquel Amanda Villamizar- Oscar Orlando Ortiz Rodriguez. (2017). In situ and in vitro evaluation of the fungal pathogens of cocoa (*Theobroma cacao* L.) crops, 6–7.
- Rivera, M. (2017). Reconociendo los síntomas y signos de la mazorca negra, (13), 1–4.
- Rodríguez Polanco, E ; Vera, A. (2015). *Identificación y manejo de la pudrición parda de la mazorca (Phytophthora sp.) en cacao.*
- Sampieri, R., Collado, C., Lucio, P., & Pérez, M. (2003). Metodología de la investigación. *Metodología de La Investigacion*, 1–25. Retrieved from http://www.univo.edu.sv:8081/tesis/021552/021552_Cap3.pdf
- Sánchez-Mora, F., & Garcés-Fiallos, F. (2012). *Moniliophthora roreri* (Cif y Par) Evans et al . en el cultivo de cacao *Moniliophthora roreri* (Cif y Par) Evans et al . in the crop of cocoa. *Scientia Agropecuaria*, 3, 249–258.
- Sánchez, P. H. (2011). Encapsulación de Aceite Esencial de Clavo para su

Aplicación en la Industria Alimentaria, 1–276.

- Scalvenzi, L., Yaguache-Camacho, B. D., Guerrini, A., Radice, M., & Chiurato, M. (2016). Efectos de los aceites esenciales amazónicos de Citrus limon y Cymbopogon citratus sobre el crecimiento de s fitopatógenos, 206–217.
- Schnell, R. J., Kuhn, D. N., Brown, J. S., Olano, C. T., Amores, F. M., & Motamayor, J. C. (2007). e - X tra * Cacao Diseases: Important Threats to Chocolate Production Worldwide Development of a Marker Assisted Selection Program for Cacao. *Phytopathology*, 1664–1669. <https://doi.org/10.1094/PHP-2001-0709-01-RV>
- Sutton, J. C., Sopher, C. R., Owen-Going, T. N., Liu, W., Grodzinski, B., Hall, J. C., & Benchimol, R. L. (2006). Etiology and epidemiology of Pythium root rot in hydroponic crops: current knowledge and perspectives. *Summa Phytopathologica*, 32(4), 307–321. <https://doi.org/10.1590/S0100-54052006000400001>
- Tobergte, D. R., & Curtis, S. (2013). Análisis socioeconómico del sector cacaotero Colombiano. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Urrutia Anaya, I; Pacheco Aguilar, J. R. (2008). AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE Pythium sp , UN FITOPATÓGENO DE INTERÉS AGRÍCOLA EN EL ESTADO DE QUERÉTARO, 1–4.
- Walker, C. A., & van West, P. (2007). Zoospore development in the oomycetes. *Fungal Biology Reviews*, 21(1), 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2007.02.001>
- Yeirme, J., & Aranzazu, F. (2010). *Manejo de las enfermedades del cacao. Director.*
- Zhang, D., Martínez, W. J., Johnson, E. S., Somarriba, E., Phillips-Mora, W., Astorga, C., ... Meinhardt, L. W. (2012). Genetic diversity and spatial structure in a new distinct Theobroma cacao L. population in Bolivia. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 59(2), 239–252. <https://doi.org/10.1007/s10722-011-9680->

11. ANEXOS

ANEXO 1. Carta de permiso del propietario de la finca para la realización de toma de muestras y aplicación de los aceites



UNIVERSIDAD DE PAMPLONA VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIONES CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, Gilberto Santos Barreto, identificado(a) con cédula de ciudadanía No. 13.386.323 de El Zulia Nz, hago constar que Raquel Amanda Villamizar Gallardo, identificada con cédula de ciudadanía 60264104 de Pamplona, docente de la Universidad de Pamplona, en calidad de investigador principal del proyecto titulado: **“Evaluación *in vitro* e *in situ* del efecto fungicida de aceites esenciales en el control de hongos patógenos del cacao en el Departamento Norte de Santander”** me informó de las actividades que se llevarán a cabo en mi finca -----, ubicada en la vereda Restauración del Municipio de Cúcuta, departamento Norte de Santander donde se llevará a cabo la fase de campo de la investigación.

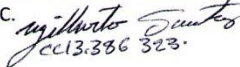
Que dentro de los objetivos de la investigación se destaca

- Realizar la aplicación de 5 tipos de aceites esenciales, empleando 3 materiales biológicos diferentes para cada tipo de aceite.
- Valorar las condiciones agroecológicas del cultivo del cacao en fincas pertenecientes a la Federación de Cacaoteros del departamento Norte de Santander.
- Calcular el porcentaje de incidencia y severidad externa en fruto tras la aplicación seriada de los aceites esenciales.

Así mismo, podré hacer todas las preguntas que considere necesarias, al teléfono 3173409802, al mismo whatsapp o al correo electrónico raquel.villamizar@gmail.com.

Y para que así conste, se firma el presente a los 26 días del mes de agosto de 2017 en las instalaciones de la finca anteriormente mencionada.

Nombre: Gilberto Santos Barreto

C.C. 
cc13.386 323.



Formando líderes para la construcción de un
nuevo país en paz

ANEXO 2. Convenio interinstitucional entre Unipamplona y Fedecacao por el cual fue financiado el proyecto de investigación.



Bogotá, 18 de diciembre de 2017

Doctora
RAQUEL AMANDA VILLAMIZAR
Directora Grupo NANOSOST.
Laboratorio Interdisciplinar de Nanotecnología y Gestión Sostenible.
Universidad de Pamplona.
Pamplona, Norte de Santander.

REF: REMISIÓN CONVENIO ESPECÍFICO DE COOPERACIÓN
INTERINSTITUCIONAL No. AD-009FE-17.

Cordial saludo.

De acuerdo a la referencia, adjuntamos firmado el original del convenio específico de cooperación interinstitucional No. AD-009FE-17, cuyo objeto es "Establecer los términos específicos de cooperación mutua entre la UNIPAMPLONA y FEDECACAO con el fin de adelantar actividades de investigación que conlleven a la caracterización de patógenos del cultivo del cacao en el departamento Norte de Santander".

Lo anterior para los fines respectivos.

Cordialmente,

ANNIE SORAYA ZAMORA PULECIO
Gestora de Investigación
Federación Nacional de Cacaoteros



"El Cacaocultor es lo Primero"
CALLE 31 No. 17 – 27 TELEFONO: 327 3000 / BOGOTÁ, D.C.
E-mail: info@fedecacao.com.co



Página 1 de 2



Universidad de Pamplona
 Pamplona - Norte de Santander - Colombia
 Tels: (71) 5685303 - 5685304 - 5685305 - Fax: 5682750 - www.unipamplona.edu.co



**FEDERACION
 NACIONAL DE
 CACAOTEROS**

**CONVENIO ESPECÍFICO DE COOPERACIÓN INTERINSTITUCIONAL No. AD-009FE-17
 DE 2017 CELEBRADO ENTRE LA UNIVERSIDAD DE PAMPLONA Y LA FEDERACIÓN
 NACIONAL DE CACAOTEROS - FEDECACAO**

Entre los suscritos a saber **OSCAR ORLANDO ORTÍZ RODRÍGUEZ**, domiciliado en Pamplona, identificado con la cédula de ciudadanía N° 88.217.201 de Cúcuta, quien en su calidad de Director de Interacción Social, nombrado mediante Resolución No.074 del 20 de enero de 2017, facultado para suscribir contratos y/o convenios mediante Resolución No. 1801 del 8 de agosto de 2015 y Resolución No. 172 del 28 de febrero de 2017, actúa en nombre y representación legal de la **UNIVERSIDAD DE PAMPLONA**, Institución de Educación Superior, oficial, sin ánimo de lucro, con personería jurídica obtenida mediante Resolución Número 1 del 24 de Enero de 1961, que adquirió el carácter de Institución de Enseñanza Superior oficial del Orden Departamental, a través de los Decretos 553 del 5 de Agosto de 1970 y 80 del 7 de febrero de 1974 expedidos por la Gobernación del Norte de Santander, y obtuvo su reconocimiento institucional como Universidad por el Decreto No. 1550 del 13 de Agosto de 1971, con NIT 890.501.510-4, quien en adelante se denominará **UNIPAMPLONA**, por una parte y de la otra **LA FEDERACIÓN NACIONAL DE CACAOTEROS**, entidad de carácter gremial, del orden privado, con NIT 899.999.175-1 representada por **EDUARD BAQUERO LÓPEZ**, identificado con cédula de ciudadanía 79.485.528, obrando como **Representante Legal**, y que en adelante se llamará **FEDECACAO**, hemos acordado suscribir el presente convenio marco de cooperación interinstitucional que se regirá por las siguientes cláusulas: **PRIMERA: OBJETO.-** Establecer los términos específicos de cooperación mutua entre la **UNIPAMPLONA** y **FEDECACAO** con el fin de adelantar actividades de investigación que conlleven a la caracterización de patógenos del cultivo del cacao en el departamento Norte de Santander. **SEGUNDA: OBLIGACIONES DE LAS PARTES.-** Con el propósito de alcanzar el objeto del presente convenio, la **UNIPAMPLONA**, ejecutora del proyecto se compromete a: **a)** Realizar procesos de caracterización de microorganismos patógenos del cultivo específicamente aquellos agentes etiológicos relacionados con la producción de moniliasis y mazorca negra. **b)** Enviar muestras al centro de investigación ubicado en San Vicente de Chucurí a fin de realizar los procesos de caracterización macro y micro de las cepas aisladas en el departamento. **c)** Realizar el depósito de las cepas caracterizadas al banco nacional de cepas de microorganismos patógenos que afectan el cultivo de cacao. **d)** Aportará el talento humano que se vincule al proyecto garantizando la debida afiliación a una Administradora de Riesgos Laborales (ARL) y al SGSSS, así como los espacios físicos y los insumos requeridos para el aislamiento de los patógenos. **FEDECACAO** por su parte se compromete a: **a)** Realizar la caracterización macro y micro de los patógenos aislados en Norte de Santander. **b)** Realizar acompañamiento a los procesos que se deriven de la investigación y a facilitar los materiales, equipos e insumos de que disponga y sean requeridos para llevar a cabo la identificación de los patógenos. **PARAGRAFO PRIMERO:**



*Formando líderes para la construcción de un
 nuevo país en paz*



ANEXO 3. Socialización de resultados Encuentro de Semilleros (ENSIAL) Cúcuta Norte de Santander.

The certificate is framed with a red border. At the top center is the seal of the Republic of Colombia. Below it, the text reads: 'La República de Colombia, y en su nombre UNIVERSIDAD DE PAMPLONA FACULTAD DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA'. The main text states: 'CERTIFICA QUE PAOLA ANDREA CAMPIÑO ROSERO CC. 1094271263 PONENTE'. The event is identified as 'ENCUENTRO DE SEMILLEROS DE INVESTIGACIÓN DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS', held on May 24 and 25, 2018, for a duration of 16 hours. At the bottom, there are three signatures: Jorge Luis Díaz Rodríguez (Decano Facultad de Ingenierías y Arquitectura), Víctor Manuel Gelvez Ordoñez (Coordinador del evento), and two logos: 'INNOVACIONES ALIMENTARIAS' (Investigación para la vida) and 'SAL Semilleros de Innovaciones Alimentarias'. A red footer bar at the bottom contains the number '41200'.

REPUBLICA DE COLOMBIA

La República de Colombia, y en su nombre
UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA

CERTIFICA QUE

PAOLA ANDREA CAMPIÑO ROSERO
CC. 1094271263

PONENTE

ENCUENTRO DE SEMILLEROS DE INVESTIGACIÓN DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS
Realizado los días 24 y 25 de mayo de 2018
Con una intensidad de 16 horas


JORGE LUIS DÍAZ RODRÍGUEZ
Decano Facultad de Ingenierías y Arquitectura

 **INNOVACIONES ALIMENTARIAS**
Investigación para la vida

 **SAL** Semilleros de Innovaciones Alimentarias


VICTOR MANUEL GELVEZ ORDOÑEZ
Coordinador del evento

41200