

UNIVERSIDAD NACIONAL

TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS



ESCUELA DE POSGRADO

**TESIS PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO
EN GESTIÓN PARA EL DESARROLLO SUSTENTABLE**

**CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LAS
PRINCIPALES PLAGAS Y ENFERMEDADES EN EL
CULTIVO DE CACAO EN LA ZONA NORORIENTAL
DEL PERÚ**

Autora: Bach. Jani Elisabet Mendoza Merino

Asesor: Ph.D. Danilo Edson Bustamante Mostajo

Registro:

**CHACHAPOYAS-PERÚ
2022**

DATOS DEL ASESOR

PhD. Danilo Edson Bustamante Mostajo

DNI: 43496105

Registro ORCID: 0000-0002-5979-6993

<https://orcid.org/0000-0002-5979-6993>

Campos de Investigación y el Desarrollo OCDE

1.06.00 -- Biología

1.06.03 -- Bioquímica, Biología molecular

AGRADECIMIENTO

Agradecimiento al proyecto “Círculo de Investigación para la innovación y el fortalecimiento de la cadena de valor del cacao nativo fino de aroma en la zona nororiental del Perú”, ya que esta investigación fue desarrollada en el marco de su ejecución, cuyo convenio de financiamiento es el N°026-2016-FONDECYT, a cargo del Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva - INDES-CES, de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas- UNTRM.

A la PhD. Martha Stefany Calderón Ríos, por su orientación; a Marco Pasapera Alvírez y Agustín Quispe Estela personal de campo por su guía y apoyo. A todas las personas que fueron parte esta investigación; colegas, compañeros de laboratorio, amigos y familiares.

Jani Elisabet

AUTORIDADES DE LA UNTRM

Dr. POLICARPIO CHAUCA VALQUI
Rector

Dr. MIGUEL ÁNGEL BARRENA GURBILLÓN
Vicerrector Académico

Dra. FLOR TERESA GARCÍA HUAMÁN
Vicerrectora de Investigación

Dr. RAUL RABANAL OYARCE
Director de la Escuela de Pos Grado

VISTO BUENO DEL ASESOR

Yo, Ph.D. Danilo Edson Bustamante Mostajo, identificado con DNI N°43496105, investigador del Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva - INDES-CES la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, asesor de la tesis:

"CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LAS PRINCIPALES PLAGAS Y ENFERMEDADES EN EL CULTIVO DE CACAO EN LA ZONA NORORIENTAL DEL PERÚ"

Presentado por la Bachiller:

Jani Elisabet Mendoza Merino,

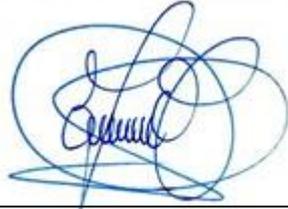
Habiendo revisado el informe final de la tesis en mención doy la conformidad y el visto bueno para continuar con los trámites correspondientes.

Chachapoyas, 01 de abril de 2022



Ph.D. Danilo Edson Bustamante Mostajo
Asesor de Tesis

JURADO EVALUADOR



Dr. SEGUNDO MANUEL OLIVA CRUZ
PRESIDENTE



Mg.Sc. ELÍ PARIENTE MONDRAGÓN
SECRETARIO



M.sc. REINER PEDRO GABRIEL REÁTEGUI INGA
VOCAL



ANEXO 6-0

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO (X) / DOCTOR ()

Los suscritos, miembros del Jurado Evaluador de la Tesis titulada:

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LAS PRINCIPALES PLAGAS Y ENFERMEDADES EN EL CULTIVO DE CACAO EN LA ZONA NORORIENTAL DEL PERÚ

presentada por el estudiante ()/egresado (X) JANI ELISABET MENDOZA MERINO de la Escuela de Posgrado, Maestría (X) / Doctorado () en SECCIÓN PARA EL DESARROLLO SUSTENTABLE

con correo electrónico institucional jmendoza@indes.ces.edu.pe

después de revisar con el software Turnitin el contenido de la citada Tesis, acordamos:



- a) La citada Tesis tiene 13 % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es menor (X) / igual () al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM.
- b) La citada Tesis tiene — % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es mayor al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM, por lo que el aspirante debe revisar su Tesis para corregir la redacción de acuerdo al Informe Turnitin que se adjunta a la presente. Debe presentar al Presidente del Jurado Evaluador su Tesis corregida para nueva revisión con el software Turnitin.

Chachapoyas, 12 de Mayo del 2022

[Handwritten signature]

SECRETARIO

[Handwritten signature]

PRESIDENTE

[Handwritten signature]

VOCAL

OBSERVACIONES:

.....
.....



UNTRM

REGLAMENTO GENERAL
PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE
BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

ANEXO 6-Q

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO (X) / DOCTOR ()**

En la ciudad de Chachapoyas, el día 09 de Junio del año 2022, siendo las 4:00 horas, el aspirante Jani Elisabet Mendoza Merino, defiende en sesión pública presencial (X) / a distancia () la Tesis titulada: Caracterización molecular de las principales plagas y enfermedades en el cultivo de cacao en la zona nororiental que tiene como asesor a Ph.D. Danilo Edson Bustamante Montaña para obtener el Grado Académico de Maestro (X)/Doctor () en Gestión para el Desarrollo Sustentable a ser otorgado por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, ante el Jurado Evaluador, conformado por:

Presidente: Dr. Manuel Oliva Cruz

Secretario: Mg.Sc. Eli Pariento Mondragón

Vocal: MSc. Reiner Pedro Gabriel Reategui Inga



Procedió el aspirante a hacer la exposición de la Introducción, Material y método, Resultados, Discusión y Conclusiones, haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la Tesis presentada, los miembros del Jurado Evaluador pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones y objeciones consideraron oportunas, las cuales fueron contestadas por el aspirante.

Tras la intervención de los miembros del Jurado Evaluador y las oportunas respuestas del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los presentes en el acto de sustentación, para que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.

Seguidamente, a puerta cerrada, el Jurado Evaluador determinó la calificación global concedida a la sustentación de la Tesis de Maestría (X)/Doctorado (), en términos de:

Aprobado (X) Desaprobado ()

Otorgada la calificación, el Secretario del Jurado Evaluador lee la presente Acta en esta misma sesión pública. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 5:13 horas del mismo día y fecha, el Jurado Evaluador concluye el acto de sustentación de la Tesis para obtener el Grado Académico de Maestro (X)/Doctor ()

[Signature]
SECRETARIO

[Signature]
PRESIDENTE

[Signature]
VOCAL

OBSERVACIONES:

.....
.....

ÍNDICE

	Pág.
DATOS DEL ASESOR.....	II
AGRADECIMIENTO.....	III
AUTORIDADES UNIVERSITARIAS	IV
VISTO BUENO DEL ASESOR... ..	V
JURADO EVALUADOR	VI
ANEXO 6-O.....	VII
ANEXO 6-Q.....	VIII
ÍNDICE	IX
ÍNDICE DE TABLAS	XI
ÍNDICE DE FIGURAS	XII
RESUMEN.....	XI
ABSTRACT	XIV
I. INTRODUCCIÓN	16
II. MATERIAL Y MÉTODOS	18
2.1 Población, muestra y muestreo.....	18
2.2 Variables de estudio	19
2.3 Colecta e identificación morfológica de muestras	19
2.4 Extracción y amplificación de ADN	20
2.5 Secuenciamiento de ADN y filogenia de plagas y enfermedades.....	22
2.6 Análisis bioinformático y construcción de árboles filogenéticos.....	22
III. RESULTADOS	23
3.1 Filogenia de plagas.....	23
3.2 Filogenia de enfermedades.....	28
3.3 Análisis morfológico de plagas asociadas en plantas de cacao.....	34
3.4 Análisis morfológico de los microorganismos responsables de las	

enfermedades asociadas en plantas de cacao	39
IV. DISCUSIÓN.....	46
4.1 Plagas asociadas al cacao en la zona Nororiental del Perú	46
4.2 Enfermedades asociadas al cacao en la zona Nororiental del Perú	48
V. CONCLUSIONES.....	50
VI. RECOMENDACIONES	51
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Lista de muestras de plagas de cacao colectadas en las regiones de Amazonas y San Martín	43
Tabla 2. Lista de muestras de enfermedades de cacao colectadas en las regiones de Amazonas y San Martín	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Provincias de muestreo de plagas y enfermedades del cacao.....	18
Figura 2. Esquema del proceso de aislamiento de microorganismos para extracción de ADN	20
Figura 3. Esquema general de la identificación morfológica de plagas y enfermedades del cacao	20
Figura 4. Esquema general de proceso para análisis molecular de plagas y enfermedades del cacao	22
Figura 5. Esquema general del proceso para el análisis filogenético de plagas y enfermedades del cacao	23
Figura 6. Árbol filogenético del marcador COI de los órdenes Blattodea, Coleoptera y Hemiptera basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de Bootstrap	25
Figura 7. Árbol filogenético del marcador COI de los órdenes Blattodea y Hemiptera basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de bootstrap.....	26
Figura 8. Árbol filogenético del marcador COI del orden Coleoptera basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de bootstrap.....	26
Figura 9. Árbol filogenético del marcador COI del orden Hemíptera basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de bootstrap... ..	27
Figura 10. Árbol filogenético del marcador COI del orden Hemíptera basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de bootstrap. Recuadro lila resalta la filogenia del género <i>Xanthochilus</i>	27
Figura 11. Árbol filogenético del marcador COI del género <i>Synopeas</i> perteneciente al orden Hymenoptera basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de bootstrap	28
Figura 12. Árbol filogenético del marcador <i>tef1</i> del género <i>Lasiodiplodia</i> del orden Botryosphaerales basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de bootstrap	30
Figura 13. Árbol filogenético del marcador <i>tef1</i> del género <i>Diaporthe</i> del orden Diaporthales basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de bootstrap	31
Figura 14. Árbol filogenético del marcador <i>tef1</i> del género <i>Fusarium</i> , orden Hypocreales basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de bootstrap.....	32
Figura 15. Árbol filogenético del marcador <i>tef1</i> del género <i>Colletotrichum</i> del orden	

Glomerellales y el género <i>Daldinia</i> del orden Xylariales basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de bootstrap	33
Figura 16. Árbol filogenético del marcador <i>tef1</i> del género <i>Epicoccum</i> del orden Pleosporales basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de bootstrap.....	34
Figura 17. Vista dorsal de insectos obtenidos de cultivos de cacao. A) <i>Aphis fabae</i> (JM 09). B) <i>Atta cephalotes</i> (JM 06). C) <i>Carmenta foraseminis</i> (JM07). D) <i>Edessa meditabunda</i> (JM 04). E) <i>Halys</i> sp. (JM 03). F) <i>Lepturges</i> sp. (JM 05). G) <i>Nasutitermes</i> sp. (JM 01). H) <i>Planococcus citri</i> (JM 02). I) <i>Xanthochilus</i> sp. (JM 10). Escala representa 1mm.....	38
Figura 18. Vista superficial de las colonias aisladas cultivadas en PDA por 7 días a 27 °C. A) <i>Colletotrichum</i> sp. (JE 19). B) <i>Daldinia</i> sp. (JE 45). C-D) <i>Diaporthe</i> sp. (JE 08). E) <i>Epicoccum</i> sp.(JE 49). F) <i>Fusarium</i> sp. (JE 32). G) <i>Lasiodiplodia</i> sp. (JE 01). H) <i>Nectria</i> sp. (JE 33). I) <i>Neocosmospora</i> sp. (JE 34). J-K) <i>Neodeightoria</i> sp. (JE 04). L) <i>Stegonsporium</i> sp. (JE 44).....	42

RESUMEN

El cacao del Nororiente peruano está infestado por plagas y enfermedades que han sido históricamente identificados con herramientas morfológicas como observaciones en el estereoscopio para las plagas y en microscopio para enfermedades, estos métodos están siendo deficientes para la correcta delimitación de especies, y en este estudio se complementó con el análisis molecular amplificando para las plagas el gen COI y para las enfermedades el gen *tef*, los que fueron secuenciados comercialmente y analizados con procedimiento bioinformático. Se encontraron siete plagas: *Atta cephalotes*, *Carmenta foraseminis*, *Halys* sp., *Nasutitermes* sp., *Planococcus citri*, *Xanthochilus* sp.; además de dos reportadas por primera vez para Perú como plaga del cacao; *Edessa meditabunda* y *Lepturges* sp. También se identificaron 10 enfermedades; *Colletotrichum* sp., *Daldinia* sp., *Diaporthe* sp., *Epicoccum* sp., *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp., *Nectria* sp., *Neocosmospora* sp., *Neodeightoria* sp. y *Stegonsporium* sp.; siendo la más distribuida *Lasiodiplodia theobromae*. Estas plagas y enfermedades han llegado a mermar la producción y calidad del cacao y con este estudio se brinda información sobre la identificación de los mismos con el fin de que los tomadores de decisiones y control de daños puedan realizar un trabajo más eficiente y se abren nuevas posibilidades de investigación que ahonden en la identificación molecular de las plagas y enfermedades del cacao.

Palabras clave: marcador COI, marcador *tef*, árbol filogenético, producción de cacao

ABSTRACT

Cocoa in northeastern Peru is infested by pests and diseases that have been historically identified with morphological tools such as stereoscopic observations for pests and microscopic observations for diseases, these methods being deficient for the correct delimitation of species, and in this study were complemented with molecular analysis by amplifying the COI gene for pests and the *tef* gene for diseases, which were commercially sequenced and analyzed with a bioinformatic procedure. A total of nine pests were found: *Atta cephalotes*, *Carmenta foraseminis*, *Halys* sp., *Nasutitermes* sp., *Planococcus citri*, *Xanthochilus* sp., and two of them reported for the first time in Peru as pests of cocoa; *Edessa meditabunda* and *Lepturges* sp. Ten diseases were also identified: *Colletotrichum* sp, *Daldinia* sp., *Diaporthe* sp., *Epicoccum* sp., *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp., *Nectria* sp., *Neocosmospora* sp., *Neodeightoria* sp. and *Stegonsporium* sp., with the most widespread being *Lasiodiplodia theobromae*. These pests and diseases have come to undermine the production and quality of cocoa and this study provides information on the identification of these pests and diseases so that decision makers and damage control can do a more efficient job and open new possibilities for research that delve into the molecular identification of pests and diseases of cocoa.

Keywords: COI marker, *tef* marker, phylogenetic tree, cocoa production

I. INTRODUCCIÓN

La planta del cacao (*Theobroma cacao* L.) pertenece a la familia de las Malvaceae y es una de las 20 especies del género *Theobroma* (POWO, 2019). Esta planta es un árbol de importancia económica, alimentaria, cosmética y farmacéutica ya que a partir de sus frutos se obtiene el chocolate, pasta de cacao, aceite esencial y otros productos (Wickramasuriya y Dunwell, 2018). La producción mundial está concentrada en los trópicos, zonas cálidas y húmedas, con un total de 4 645 000 Ton. (ICCO, 2018). Perú produce y exporta cacao principalmente a Europa (Países Bajos y Bélgica). En el 2018, el monto total de exportación alcanzó los US\$ 266 millones (Searles, 2019) que equivale al 3.8% del total de exportaciones agrícolas para ese año (Gestión, 2019). Las regiones del nororiente peruano son los productores mayoritarios de cacao en el Perú, siendo esta actividad, el sustento económico de 1,239 familias (INDECOPI, 2016). En la región de Amazonas se cultiva diferentes variedades de cacao con características finas de aroma que representan en su total el 75 % de las exportaciones (INDECOPI, 2016). Debido a las particularidades organolépticas del cacao de la Región de Amazonas, INDECOPI (2016) concedió la denominación de origen al cacao de esta región como “Cacao Amazonas Perú”.

Las plantas de cacao pueden vivir más de 100 años, aunque se consideran solo 15 años de producción óptima, llegando en algunos casos hasta 40 años (Almeida y Valle, 2008). El cacao está propenso a plagas que son organismos que compiten con el hombre por alimento, provocando bajo rendimiento de cultivos y pérdidas económicas (INATEC-Nicaragua, 2016). Además, el cacao también puede presentar enfermedades que generan alteraciones a la funcionalidad de las plantas, provocados por microorganismos (INATEC-Nicaragua, 2016). El cacao al ser un cultivo perenne está expuesto de manera cíclica a estas plagas y enfermedades que disminuyen la calidad y cantidad de cacao producido. Numerosos tipos de plagas pueden atacar a las plantaciones de cacao durante su crecimiento (Ohene, 2014) y reducir la producción hasta un 50-60% (Ohene, 2014; Basri *et al.*, 2019). En regiones donde se presentan cultivos masivos de cacao como en Côte d'Ivoire (38%), Ghana (19%) e Indonesia (13%) se pueden encontrar chinches (*Sahlbergella singularis*, *Distantiella teobroma*), cochinillas (*Pseudococcus njalensis*), hormigas, barrenadores (*Conopomorpha cramerella*, *Zeuzera*) y mariquitas (*Helopeltis* sp.) (Entwistle *et al.*, 1959; Cacao-México, 2019). Por otro lado, entre las enfermedades de mayor impacto negativo en los cultivos de cacao tenemos el pie negro (*Phytophthora*

sp.), escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*), moniliasis (*Moniliophthora roreri*), veta vascular (*Ceratobasidium theobromae*), y brote hinchado (*Badnavirus*) (Ploetz 2016).

En el Perú, las principales plagas son causadas por áfidos o pulgones, las ninfas de chinche, larvas del torneador del cacaotero y hormigas; mientras que las principales enfermedades en los cultivos de cacao son causadas por hongos, entre ellas están la moniliasis, escoba de bruja, pie negro y el mal del machete. Estas plagas y enfermedades pueden causar hasta el 80% de pérdida de cosechas sin un manejo oportuno (Cerrón, 2012).

Las plagas y enfermedades asociadas a los cultivos de cacao han sido identificadas principalmente bajo métodos tradicionales de caracterización anatómica y morfológica (Cerrón, 2012). En este sentido, la identificación de las plagas que afectan los cultivos de cacao basa sus identificaciones en la morfología asociada a la cabeza, tórax y abdomen de los insectos (Cerrón, 2012). Del mismo modo, la distinción de los microorganismos causales de las enfermedades en los cultivos de cacao se basa en la morfología de los micelios, conidias, estructuras de esporulación sexuales y asexuales y color y textura de las colonias (Trabelsi *et al.*, 2017; Kwarteng, *et al.*, 2018, Hassan, *et al.*, 2018; Silva, *et al.*, 2019). Sin embargo, la amplia plasticidad morfológica en insectos dependiendo de su estadio fisiológico (Zhi-qin *et al.*, 2006) y la simplicidad morfológica en la mayoría de hongos (Brandt y Warnock, 2015) limitan la correcta identificación de estos organismos. Por ello, el uso de técnicas objetivas como aquellos basados en la amplificación molecular de los marcadores de ADN, son fundamentales para la adecuada tipificación de estos organismos.

A pesar de la repercusión generada por estas plagas y enfermedades, el uso de herramientas moleculares en la identificación y confirmación de las mismas no han sido ampliamente utilizadas (Rahman *et al.*, 2014; Tembe, Shouche, y Ghate, 2014), las cuales son de vital importancia para la elaboración de lineamientos de manejo y control (SENASA, 2018). En este sentido, el objetivo de este estudio es caracterizar la diversidad de los organismos responsables de las principales plagas y enfermedades que infestan a los cultivos del cacao mediante el uso de herramientas morfológicas y moleculares, dando como resultado la filogenia de los mismos. Esta información será de mucha utilidad para la elaboración de medidas de control adecuadas.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Población, muestra y muestreo

Población: Organismos responsables de las plagas y enfermedades asociadas a las plantas de cacao de la zona Nororiental del Perú.

Muestra: Organismos responsables de las plagas y enfermedades asociadas a las plantas de cacao de las regiones de Amazonas, Cajamarca y San Martín.

Muestreo: Se utilizó un muestreo no probabilístico y aleatorio sin estratificar para determinar la diversidad genética de plagas y enfermedades, las muestras se colectaron desde plantas de cacao afectadas, específicamente de las hojas, fruto o tronco según corresponda. La población y muestra estuvo conformada por los especímenes de plagas y enfermedades encontradas en campo. Los lugares de recolección fueron 154, distribuidos en 11 provincias de las regiones de Amazonas, Cajamarca y San Martín (Fig. 1):



Figura 1. Provincias de muestreo de plagas y enfermedades del cacao.

2.2 Variables de estudio

Variable: Secuencias de ADN de las principales plagas y enfermedades de las plantas del cacao.

Variable: Diversidad de organismos asociados a las principales plagas y enfermedades de las plantas del cacao.

2.3 Colecta e identificación morfológica de muestras

Organismos responsables de plagas: Se colectaron por duplicado los especímenes de las plagas encontradas (Song *et al.*, 2016), se transportaron desde campo hacia el laboratorio en contenedores de paredes firmes para evitar deformaciones. Para la identificación morfológica, se realizó el montaje de los insectos en el Laboratorio de Sanidad Vegetal (LABISANV) de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM), fijándolos en una base sólida. Luego del montaje, fotografías fueron tomadas de la cabeza, tórax y abdomen de los insectos con la cámara (Nikon DS-Ri2, Tokio, Japón) empotrada a un estereomicroscopio (SMZ18-Nikon, Tokio, Japón). A partir de estas fotografías se registraron las medidas y características taxonómicas de cada insecto para su clasificación con el uso de claves dicotómicas según su orden taxonómico (Choate, 2003; Dietrich, 2005) (Fig. 3).

Organismos responsables de enfermedades: Se colectaron los frutos, hojas y partes del tronco afectados según la metodología descrita por Suárez-Contreras (2016). Las principales enfermedades del cacao fueron identificadas según la guía de Phillips-Mora y Cerda, (2011). Brevemente, una de las técnicas para aislar enfermedades es la siembra directa de una muestra de la parte afectada en placas Petri con medio de cultivo de microorganismos (Papa Dextrosa Agar: PDA), preparado según las indicaciones del fabricante (PDA; Merck, Darmstadt, Alemania), lo que favoreció el crecimiento de los aislados que se incubaron durante 7 días a 30 °C y se reaislaron hasta tener colonias únicas (Carrera-Sánchez *et al.*, 2014) (Fig. 2). Estas colonias fueron sembradas en medios inclinados, en tubos con 5 mL de PDA, incubados durante 7 días a 30 °C y posteriormente conservados a 4°C de refrigeración. Estas colonias puras luego de su aislamiento, fueron fotografiadas a nivel macro y microscópico (Nikon - SMZ 18, Tokio, Japón). Para ello se prepararon muestras con tinción de Azul de metileno sobre una lámina porta objetos.



Figura 2. Esquema del proceso de aislamiento de microorganismos para extracción de ADN.



Figura 3. Esquema general de la identificación morfológica de plagas y enfermedades del cacao.

2.4 Extracción y amplificación de ADN

Plagas:

Se tomó todo el espécimen de la plaga y se extrajo el ADN genómico total con el kit Tissue & Insect Microprep Kit (Zymo Research, USA) según las instrucciones del fabricante y se procedió a amplificar el gen *cox1* usando los siguientes primers (Song *et al.*, 2016):

- COL_HCO-700ME (5'- TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA -3')
- COL_LCO-1490 (5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3')

La amplificación con la Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) tuvo la siguiente mezcla de reacción: 2 µL de la extracción de ADN a una concentración de ~10 ng/uL, 5 µL de Mastermix (Promega, Wisconsin, EE. UU), 2.6 µL de agua libre de nucleasa (Promega, Wisconsin, EE. UU) y 0.2 µL a 0.25 pmol de primers (Delantera y Reversa) para un volumen total de 10 µL. El protocolo de PCR siguió los siguientes parámetros: pre-desnaturalización 96°C durante 2 min, luego 45 ciclos de desnaturalización a 94°C durante 1 min, 48°C durante 1 min (anillamiento) y 68°C durante 1 min (extensión), por último, un ciclo de 72 °C de 10 min (elongación final) (Fig. 4).

Enfermedades: A partir del cultivo de cepas puras de microorganismos se extrajo el ADN genómico total con el kit ZymoBIOMICS DNA Miniprep Kit (Zymo Research, USA), siguiendo las indicaciones del fabricante y se procedió a amplificar el gen *tef* usando los siguientes primers (Rehner et al., 2011):

- *tef1*-EF1728F (5'- CAT CGA GAA GTT CGA GAA GG -3')
- *tef1*-TEF1LLErev (5'- AAC TTG CAG GCA ATG TGG -3')

La amplificación con la Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) tuvo la siguiente mezcla de reacción: 2 µL de la extracción de ADN a una concentración de ~10 ng/uL, 5 µL de Mastermix (Promega, Wisconsin, EE. UU), 2.6 µL de agua libre de nucleasa (Promega, Wisconsin, EE. UU) y 0.2 µL a 0.25 pmol de primers (Delantera y Reversa) para un volumen total de 10 µL. El protocolo de PCR siguió los siguientes parámetros: pre-desnaturalización 92°C durante 5 min, seguido de 45 ciclos de desnaturalización a 92°C durante 1 min, 55°C durante 45 s (anillamiento) y 65°C durante 1 min (extensión), por último, un ciclo de 70 °C de 5 min (elongación final) (Fig. 4).



Figura 4. Esquema general de proceso para análisis molecular de plagas y enfermedades del cacao

2.5 Secuenciamiento de ADN y filogenia de plagas y enfermedades

Los productos de PCR fueron sometidos a electroforesis en geles de agarosa al 1% y purificados con el kit de limpieza NucleoSpin Gel y PCR clean-up (Macherey-Nagel, Düren, Alemania) según las instrucciones del fabricante. Los amplicones de la cadena delantera y reversa de los genes seleccionados para los organismos responsables de las plagas y enfermedades fueron secuenciados por Macrogen (Daejeon, Corea) con los mismos primers de amplificación.

2.6 Análisis bioinformático y construcción de árboles filogenéticos

Los electroferogramas resultantes del secuenciamiento de cada amplicón se editó con el software Chromas v1.45 (Rahman *et al.*, 2014). Luego, las secuencias editadas fueron alineadas entre sí y con otras secuencias homólogas descargadas del National Center for Biotechnology Information (NCBI, EEUU) en el programa MEGA7 (Kumar y Tamura,

2008)

El modelo general de sustitución de nucleótidos con una distribución gamma, reversible en el tiempo y una proporción de sitios invariables (GTR + Γ + I) se seleccionó para todas las construcciones de los árboles filogenéticos. Los análisis de máxima verosimilitud (ML) se realizaron con el programa RAxML HPC-AVX implementado en la interfaz raxmlGUI 1.3.1, utilizando un modelo GTRGAMMAI con 1000 repeticiones de bootstrap (Fig. 5).



Figura 5. Esquema general del proceso para el análisis filogenético de plagas y enfermedades del cacao.

III. RESULTADOS

Las relaciones filogenéticas de los grupos de plagas y enfermedades asociados al cultivo del cacao se presentan a continuación.

3.1 Filogenia de plagas

Los análisis filogenéticos de las plagas asociadas a las plantas de cacao, amplificadas con el marcador COI, incluyeron 15 secuencias agrupadas en nueve especies en los órdenes Blattodea, Coleptera Hemiptera (Fig. 6).

En el orden Blattodea se identificó una especie del género *Nasutitermes* (Fig. 7) colectada de Mariscal Cáceres, San Martín (JM01). Este espécimen es filogenéticamente cercano al clado compuesto por tres especies del género *Nasutitermes* provenientes de Brasil (KX036770) y Guyana (MG813837) (Fig. 7). Estas especies divergen 5.4-7.5% (p-distance).

En el género *Lepturges* del orden de Coleoptera se identificó una especie colectada en el Hebrón, Condorcanqui (JM11) y se confirmó evolutivamente que es especie hermana de *Lepturges symmetricus* (KR486345) de Canadá (Fig. 8).

Dentro del orden Hemiptera se identificaron un total de siete especies pertenecientes a los géneros *Edessa*, *Halys* y *Xanthochillus*. Una de estas especies pertenece al género *Edessa* (JM04), siete individuos (JM03, JM12, JM24, JM26, JM17, JM19, JM23) agrupados en cinco especies pertenecen al género *Halys* (Fig. 9) y cinco individuos (JM21, JM22, JM20, JM18, JM 10) agrupados en una especie pertenecen al género *Xanthochillus* (Fig. 10). En el género *Edessa*, nuestro espécimen *Edessa* sp. (JM04) proveniente de Pajarillo, San Martín y *E. meditabunda* de Brasil resultaron ser especies hermanas con una divergencia de 2% (p-distance) (Fig. 9). Por otro lado, las cinco especies del género *Halys* fueron colectadas de Mariscal Cáceres (Pajarillo: JM03), Utcubamba (Naranjos Alto: JM17, La Concordia: JM19), Condorcanqui (San José: JM23, JM24; Hebrón: JM12) y Bagua (Copallín: JM26), evolutivamente forman un único linaje, pero con bajo soporte (Bootstrap=43) (Fig. 9). Nuestras colectas provenientes de Perú junto con *H. serrigera* (KX467345) y *H. dentatus* (MG816014) provenientes de Indonesia confirmaron que *Halys* es un género polifilético (Fig. 9). Los cinco individuos pertenecientes al género *Xanthochilus* provenientes de Utcubamba (Naranjos Alto: JM18; Diamante Bajo: JM22; La Concordia: JM20), Condorcanqui (Hebrón: JM10) y de Bagua (La Cruz: JM21) fueron resueltas como especie hermana de *X. quadratus* de Alemania (KM022354) con una divergencia genética de 14.9-19.2 %.

En el caso del orden Hymenoptera, se encontró una especie en género *Synopeas* colectada en el Hebrón, Condorcanqui (JM09), al norte de Amazonas (Fig. 11). Nuestro espécimen fue resuelto cercana a *S. pennsylvanicum*, *Synopeas* sp. y *Platygastridae* sp. de Canadá con una divergencia de 1.0-2.6% (p-distance).

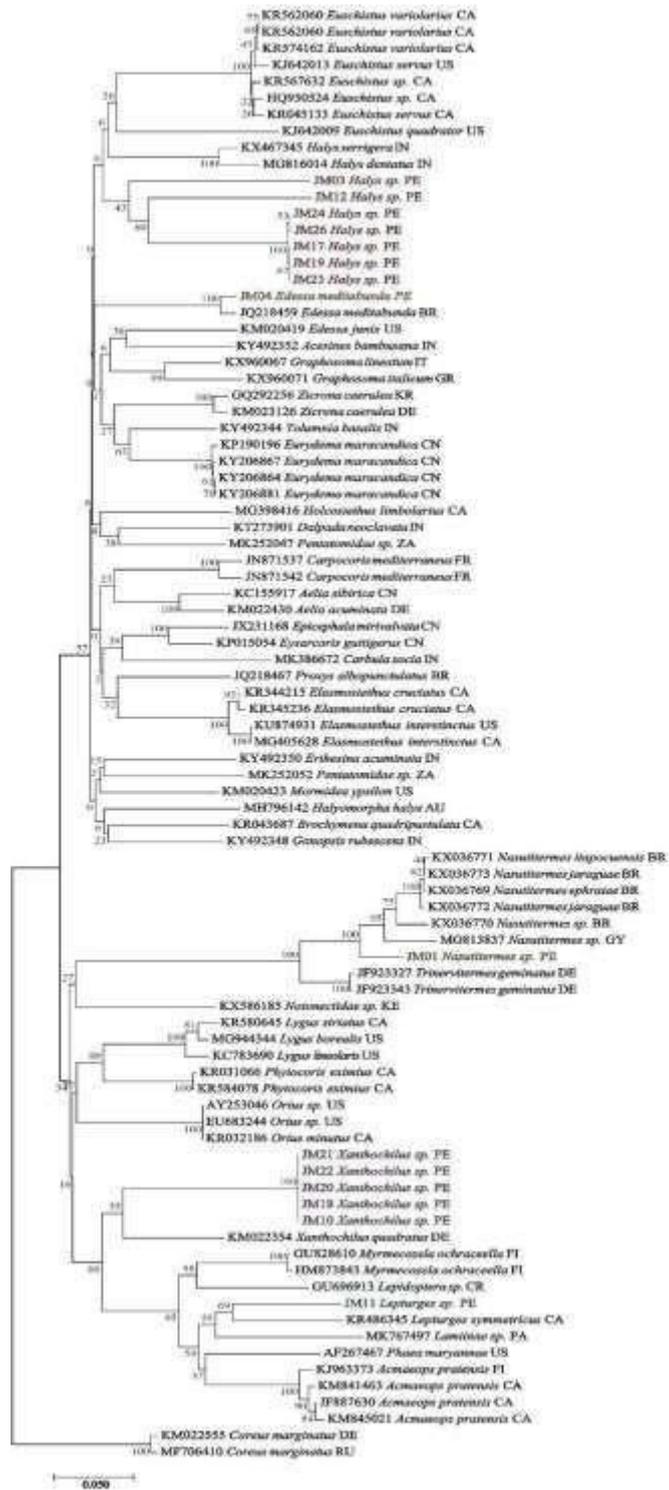


Figura 6. Árbol filogenético del marcador COI de los órdenes Blattodea, Coleoptera y Hemiptera basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de bootstrap. Escala muestra la sustitución de nucleótidos.

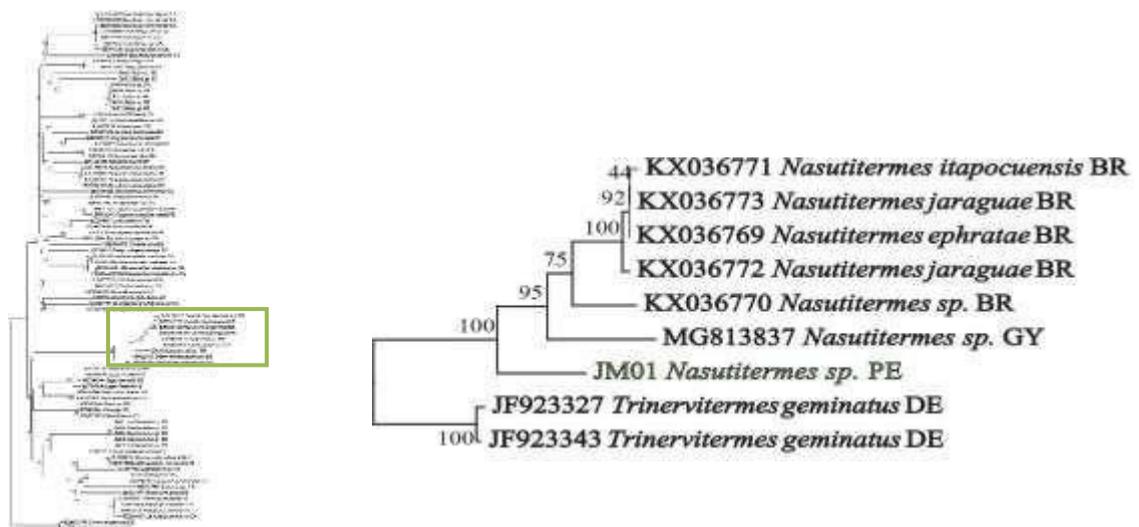


Figura 7. Árbol filogenético del marcador COI del orden Blattodea basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de bootstrap. Recuadro verde resalta la filogenia del género *Nasutitermes*.

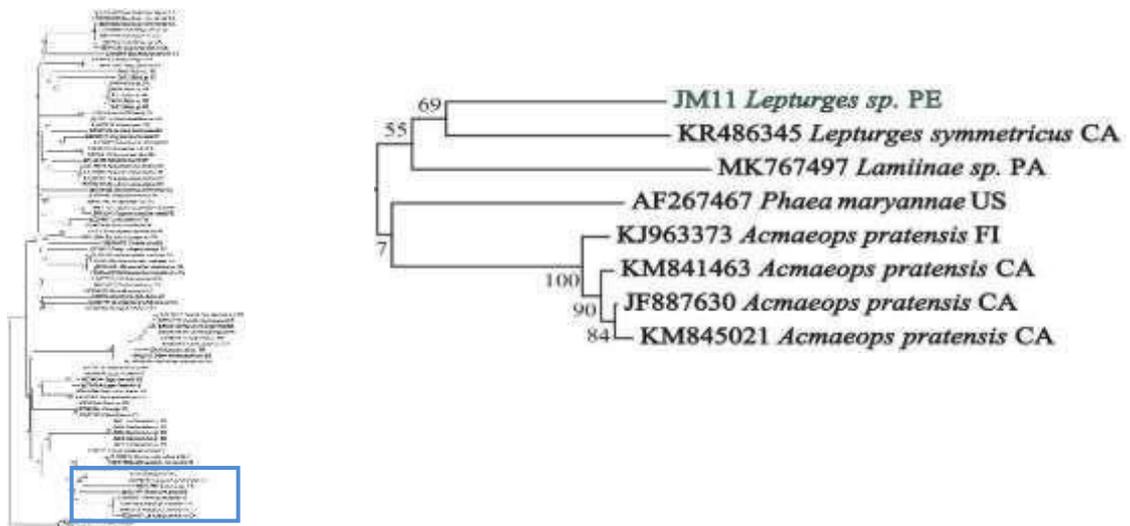


Figura 8. Árbol filogenético del marcador COI del orden Coleoptera basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de bootstrap. Recuadro azul resalta la filogenia del género *Lepturges*.

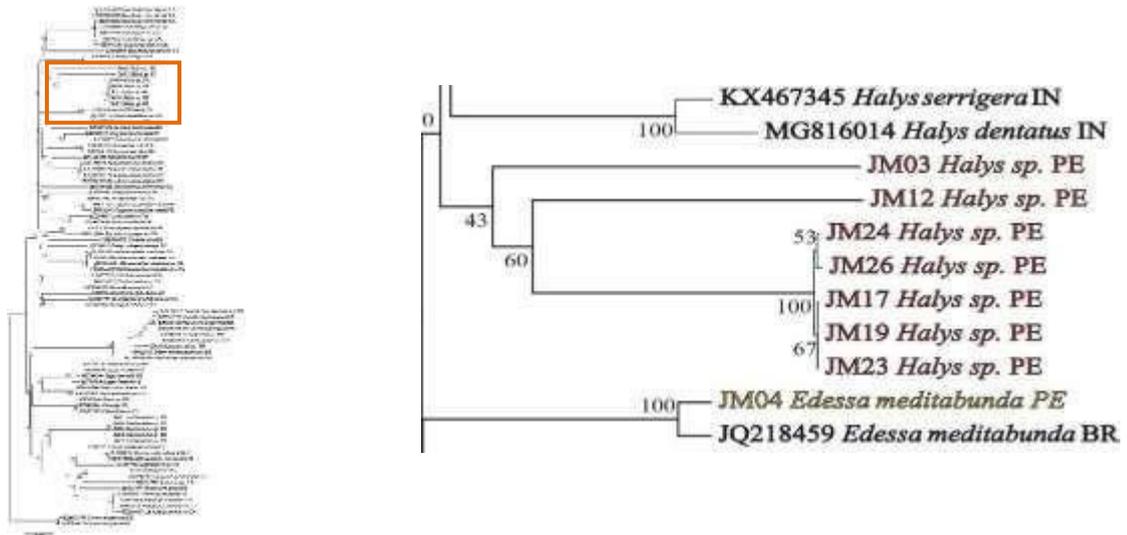


Figura 9. Árbol filogenético del marcador COI del orden Hemíptera basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de bootstrap. Recuadro anaranjado resalta la filogenia de los géneros *Halys* y *Edessa*.

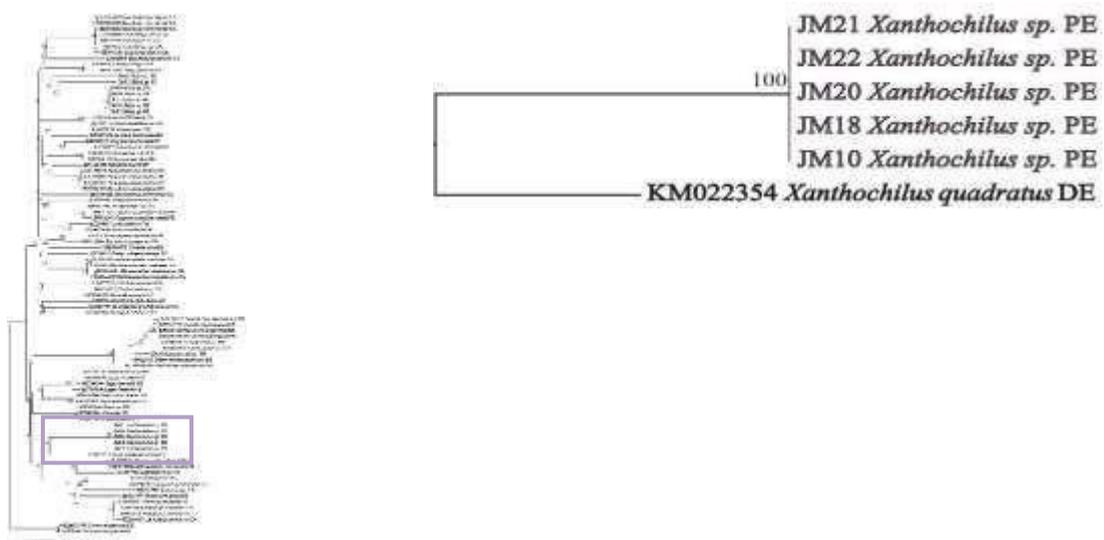


Figura 10. Árbol filogenético del marcador COI del orden Hemíptera basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de bootstrap. Recuadro lila resalta la filogenia del género *Xanthochilus*.

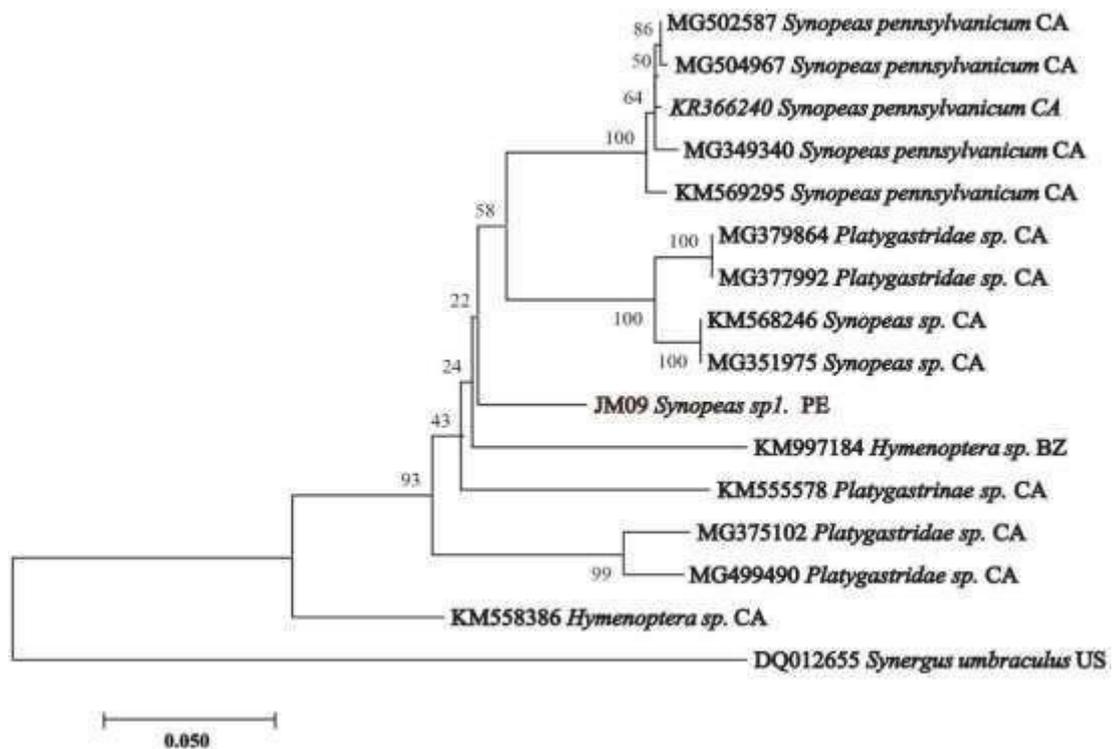


Figura 11. Árbol filogenético del marcador COI del género *Synopeas* perteneciente al orden Hymenoptera basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de bootstrap. Escala muestra la sustitución de nucleótidos.

3.2 Filogenia de enfermedades

Los análisis filogenéticos de las enfermedades asociadas a las plantas de cacao, amplificadas con el marcador *tef1*, incluyeron 28 especímenes de hongos agrupados en 9 especies dentro de los órdenes Botryosphaerales (Fig. 12), Diaporthales (Fig. 13), Hypocreales (Fig. 14), Glomerellales (Fig. 15), Pleosporales (Fig. 16) y Xylariales (Fig. 15).

Dentro del orden Botryosphaerales (Fig.12) se identificaron un total de dos especies. Diez especímenes de *Lasiodiplodia theobromae* fueron colectadas de Pajarillo, San Martín (JE01, JE02, JE12, JE15, JE16, JE17) y de Cumba, Utcubamba (JE12, JE15, JE16, JE17). Estos especímenes fueron genéticamente conespecíficos con otros especímenes de *L. theobromae* de Brasil. Un espécimen proveniente de Pajarillo, San Martín (JE03) también fue conespecífico con *L. theobromae* de China (MN461166) con una diferencia del 1.3% según el p-distance. Otro género dentro del orden Botryosphaerales fue *Neodeightonia* sp. (JE04), este espécimen fue colectado de Pajarillo, San Martín y

muestra relaciones parafiléticas con *Bagnisiella*, *Neodeightonia* y *Saccharata* divergiendo entre 2.9 % y 4.6% (p-distance).

En el orden Diaporthales (Fig. 13) se encontraron 3 especímenes que corresponden a una especie del género *Diaportha* (JE08, JE09, JE10). Estos especímenes fueron colectados de Copallín, Bagua divergiendo entre ellas en 0.2-0.4% basados en el p-distance. Además, estos especímenes se encuentran filogenéticamente cercanas a *Diaporthales* sp. proveniente de China (JX570892) diferenciándose genéticamente entre 4.7-5.1% (p-distance) siendo consideradas especies hermanas (Fig. 13).

Dentro del orden de los Hypocreales (Fig. 14) se identificaron especies pertenecientes al género *Fusarium* (JE06, JE07, JE11, JE41, JE42, JE43, JE47, JE52) que fueron colectados de San Martín (Pajarillo), Utcubamba (Cumba: JE13, JE14; Diamante Alto: JE23, JE42; Alto Amazonas: JE47) y Bagua (La Concordia: JE41, JE43; El Chalán: JE52). Estos individuos presentan divergencias genéticas que oscilan entre 0,2 y 5,4% (p-distance). El espécimen JE42 resultó ser especie hermana de *F. equiseti* de China (KU939017) con una divergencia de 3.6% (p-distance). Los especímenes JE41, JE43 y JE52 formaron un complejo de especies con *F. equiseti* de Polonia (KP008978) con una divergencia entre 5.8 – 7.5 % (p-distance). Los especímenes JE06, JE07, JE11 JE13, JE14, JE47 y JE51 también formaron un complejo de especies con *F. solani* de Estados Unidos (JF40850) con una divergencia entre 0.9 y 12.6% (p-distance) (Fig. 11). La muestra JE23 colectada de Diamante Alto, provincia de Utcubamba, Amazonas diverge en 2.8% de su hermana filogenética *F. vasinfecta* (HM484842) de Sudáfrica (Fig.14).

En el orden de Glomerellales, dos muestras (JE19 y JE46) provenientes de Copallín y el Chalán, Bagua, Amazonas fueron resueltas conespecíficas de *Colletotrichum* sp. provenientes de Panamá (GU994490) (Fig. 15).

En el orden Pleosporales se encontró una muestra (JE49) cercana genéticamente a *Epicoccum* sp. de China (KX894777) con un porcentaje de divergencia del 2.9% según el p-distance (Fig. 16).

Dentro del orden Xylariales, un espécimen fue identificado como *Daldinia* sp. (JE45). Este espécimen resultó ser una especie hermana de *Daldinia bambusicolia* proveniente de Tailandia (KU940208) con valor de divergencia del 5.1% (p-distance) (Fig. 15).

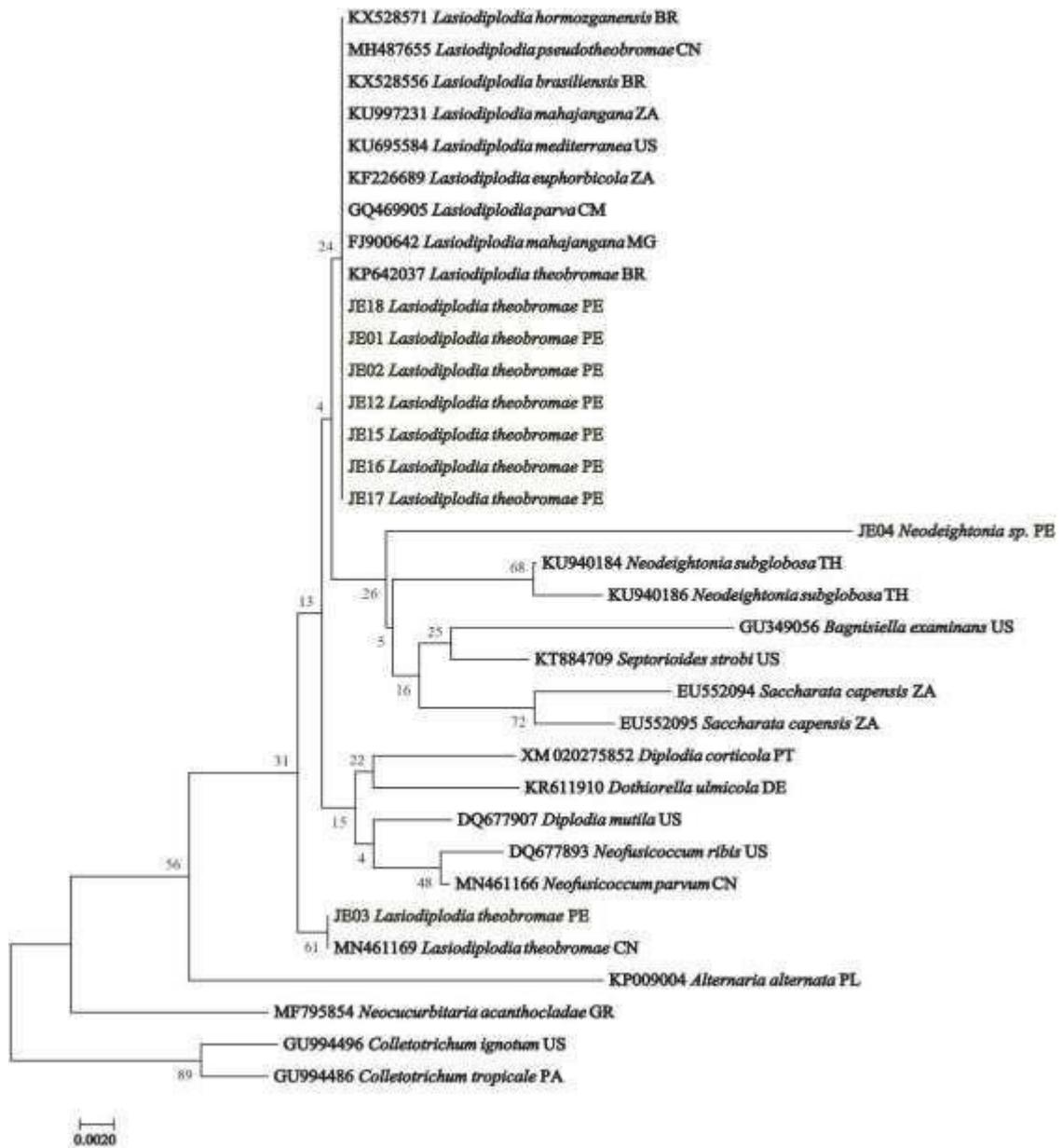


Figura 12. Árbol filogenético del marcador *tef1* del género *Lasiodiplodia* del orden Botryosphaerales basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de bootstrap. Escala muestra la sustitución de nucleótidos.

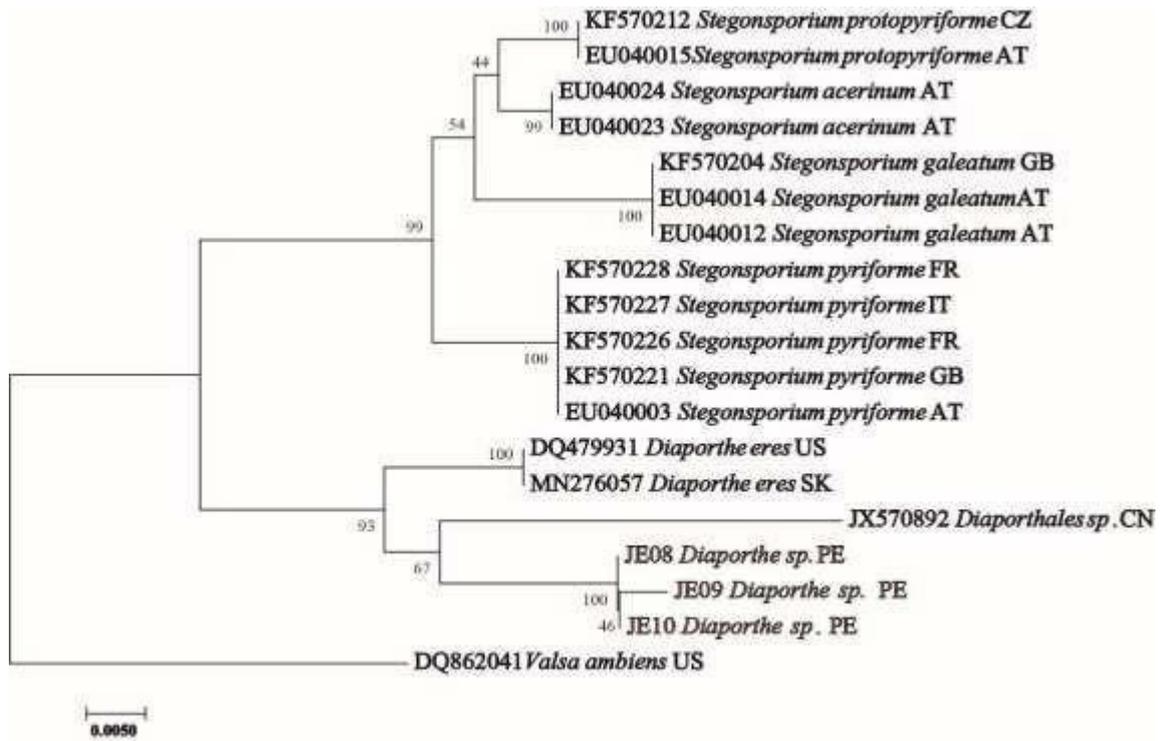


Figura 13. Árbol filogenético del marcador *tef1* del género *Diaporthe* del orden Diaporthales basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de bootstrap. Escala muestra la sustitución de nucleótidos.

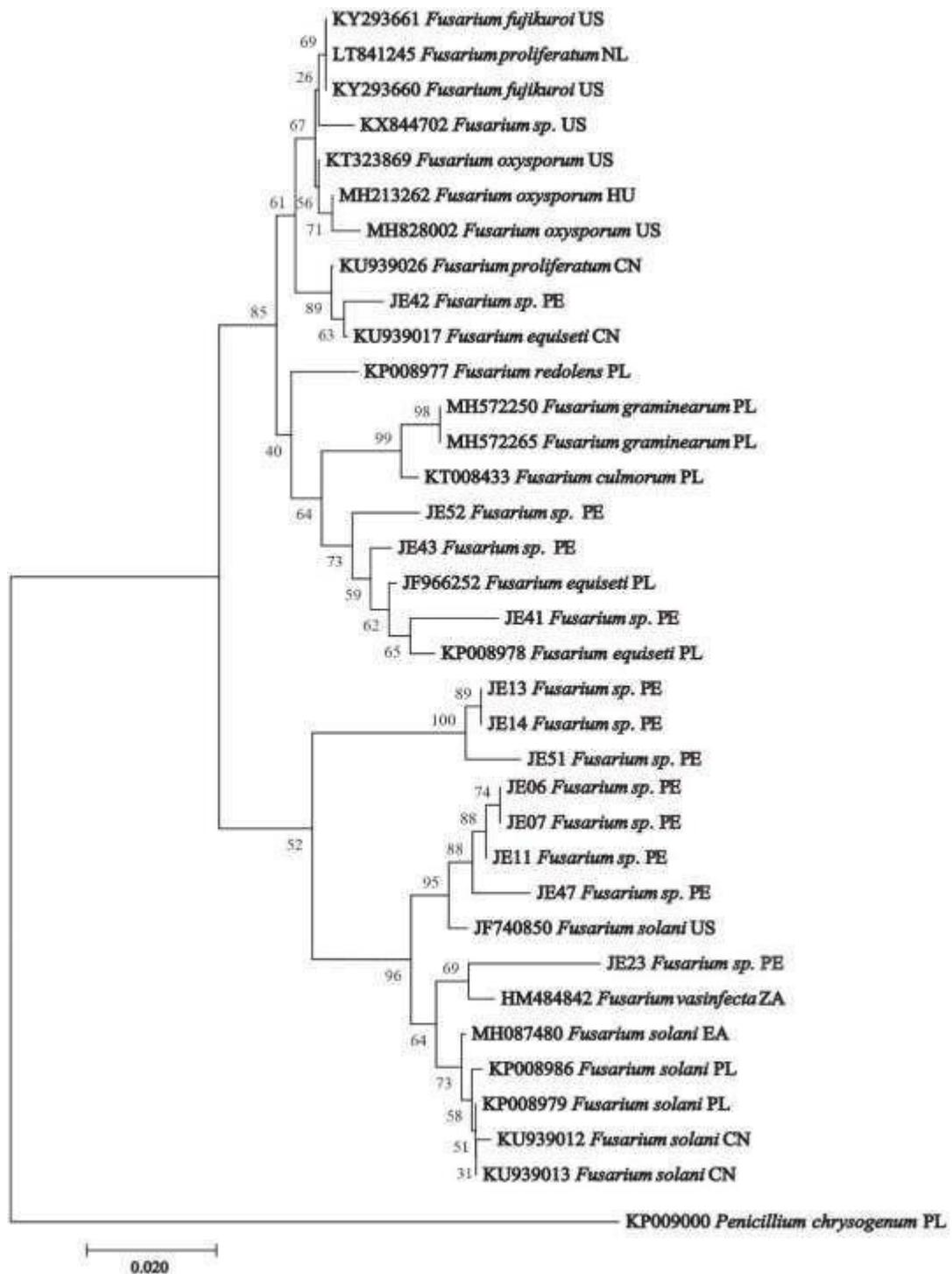


Figura 14. Árbol filogenético del marcador *tef1* del género *Fusarium*, orden Hypocreales basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de bootstrap. Escala muestra la sustitución de nucleótidos.

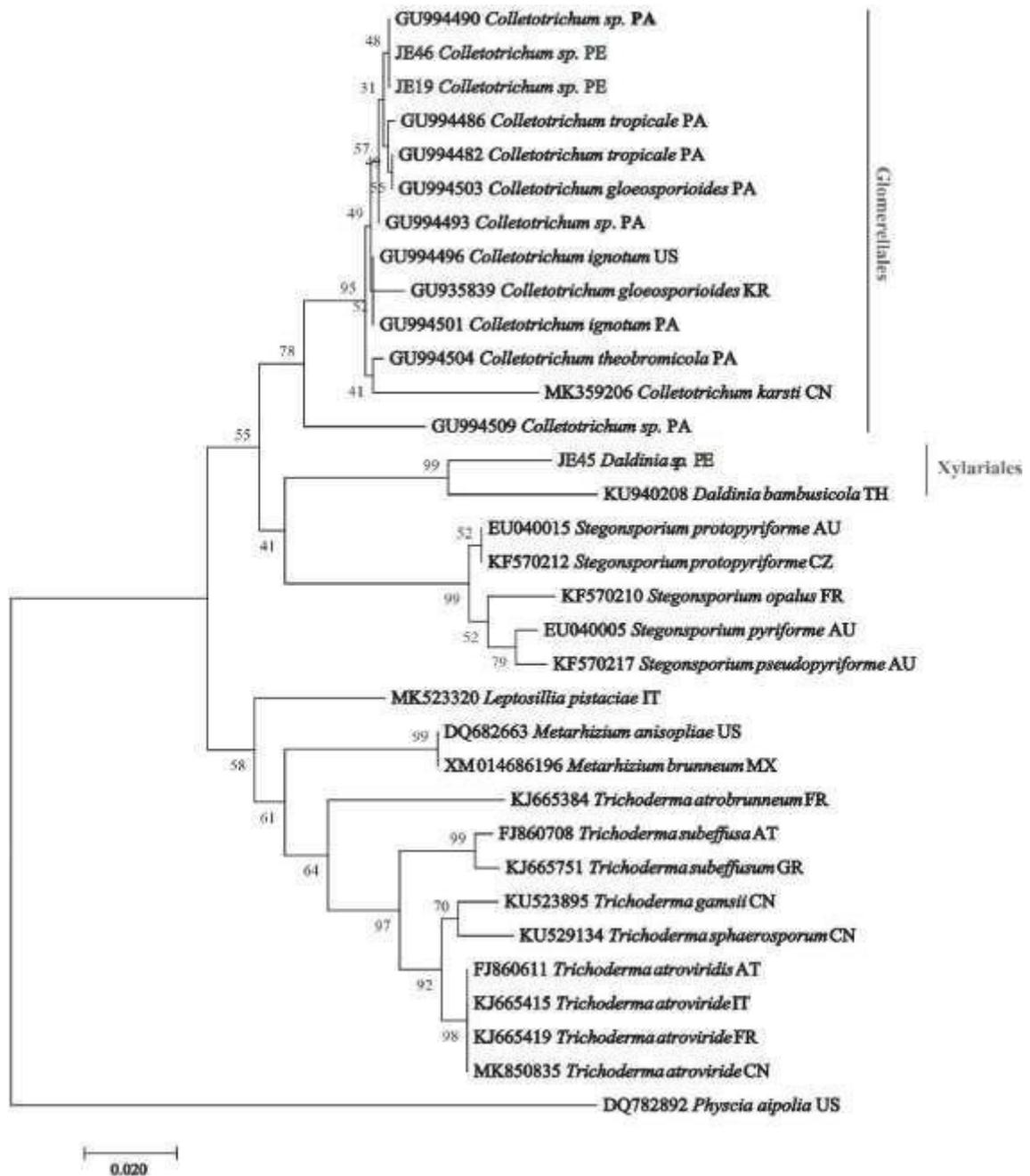


Figura 15. Árbol filogenético del marcador *tef1* del género *Colletotrichum* del orden Glomerellales y el género *Daldinia* del orden Xylariales basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de bootstrap. La escala muestra la sustitución de nucleótidos.

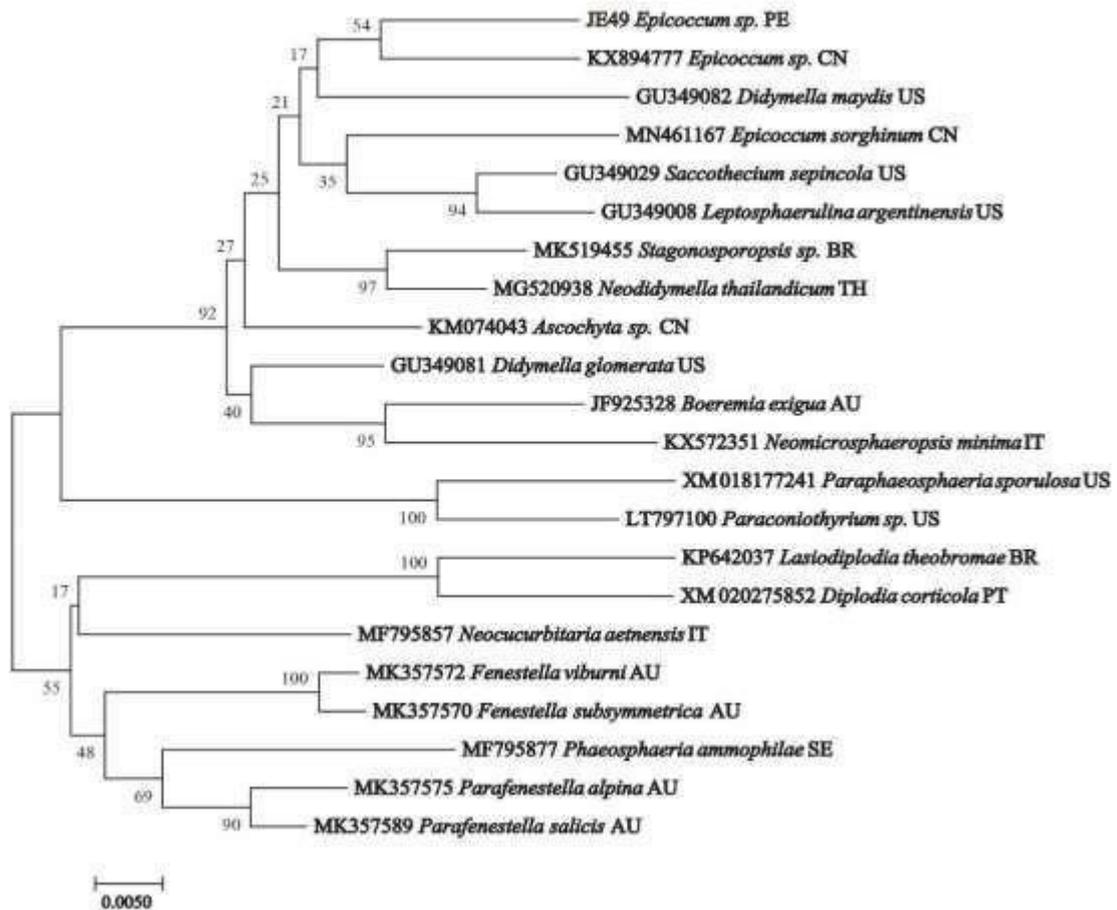


Figura 16. Árbol filogenético del marcador *tef1* del género *Epicoccum* del orden Pleosporales basado en inferencia de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones de bootstrap. Escala muestra la sustitución de nucleótidos.

3.3 Análisis morfológico de plagas asociadas en plantas de cacao

Se colectaron 25 especímenes de plagas de las 11 provincias. La plaga más frecuente fue el chinche, estando presente en cuatro diferentes géneros (*Edessa*, *Xanthochillus*, *Halys* y *Lepturges*) con un total de 17 apariciones. También se encontraron dos comejenes (*Nasutitermes* sp.), dos pulgones (*Aphis fabae*), dos hormigas (*Atta cephalotes*), una cochinilla (*Planococcus citri*) y una carmenta (*Carmenta foraseminis*). El chinche estuvo presente en todas las parcelas muestreadas y pertenecen al orden Hemíptera (Rengifo-correa y Gonzales, 2011).

3.3.1 *Aphis fabae* (Scopoli, 1763) (Fig. 17A)

Descripción: Es de color marrón oscuro a negro, cuenta con un par de antenas segmentadas que son más pequeños que el cuerpo, cuenta con ocelos al borde de la cabeza. El abdomen tiene segmentos intermedios, mide entre 1.5-2.6 mm y alas casi

permanentemente pegadas, causan daños a las hojas jóvenes y son vectores para muchas enfermedades. Es comúnmente conocido como pulgón negro (Turpeau et al., 2014).

Daño en el cacao: Su alimentación es a base de savia que está presente en los brotes de hojas y los frutos tiernos, se presentan en alta concentración de individuos por lo que el daño puede ser significativo, retrasando o impidiendo el desarrollo de la planta o el fruto (Meza, 2018).

3.3.2 *Atta cephalotes* (Linnaeus, 1758) (Fig. 17B)

Descripción: En América del sur son consideradas como una de las plagas más perjudiciales ya que tienen una avanzada organización social, cosechan hojas de las plantas y en simbiosis con especies de hongos los procesan. Las hormigas cortadoras de hojas *Atta* son relativamente grandes, de color rojo oxidado o marrón, y tienen un cuerpo espinoso y patas largas. No cuentan con alas, a excepción de los de la casta reproductora, miden entre 5-12mm, tienen una cabeza grande y antenas fuertes, aparato bucal fuerte y desarrollado, abdomen liso con vellosidades, unido al tórax por dos nódulos.

Daño en el cacao: Es una hormiga cuyo trabajo es cortar y acarrear hojas, sus colonias son bastas y llegan a defoliar árboles enteros, dejándoles sin la posibilidad de realizar fotosíntesis lo que puede matar a la planta (Carrasco, 1962).

3.3.3 *Carmanta foraseminis* (Eichlin, 1995) (Fig. 17C)

Descripción: Son insectos que presentan colores metálicos, con aspecto parecido al de una avispa, miden entre 8.3-17 mm. Tienen la cabeza globular, con ojos compuestos, un par de antenas, su tórax presenta protórax, mesotórax y metatórax, aquí tiene sus 3 pares de patas que son largas, las alas translúcidas, el abdomen es largo y delgado que termina en pelos pequeños e individuales.

Daño en el cacao: El daño más relevante es causado por el insecto en estado de larva que necesita del mucílago del cacao, que se encuentra alrededor de la semilla. Esto provoca que se genere un orificio que es provechado por enfermedades oportunistas que terminan deteriorando la mazorca por dentro, aun cuando la mazorca se vea saludable por fuera (Morán-Rosillo, 2014).

3.3.4 *Edessa meditabunda* (Fabricius, 1794) (Figura 17D)

Descripción: Estos organismos se caracterizan por que en sus primeros estadios como huevo y ninfa son de color verde translúcido, con una mancha amarilla en el abdomen, el

adulto tiene cuerpo ovalado, pueden llegar a medir 20 mm, cabeza subtriangular verde. Ojos castaño oscuros, ocelos rojo brillantes, que se encuentran entre los ojos y muy cercanos a éstos. Cuentan con antenas de unos 10 mm de longitud. Tienen el tórax con superficie dorsal verde, escutelo subtriangular. Abdomen con superficie dorsal semi cubierta por el escutelo (Rizzo y Saini, 1987)

Daño en el cacao: Las ninfas y adultos de *E. mediatubunda* se alimentan de flores, frutos en desarrollo y/o granos, ocasionando deformidades en la fruta, desmereciendo su calidad al momento de cosecha. Pueden transmitir enfermedades generadas por hongos (Sistema Nacional De Vigilancia, 2019).

3.3.5 *Halys* sp. (Fig. 17E)

Descripción: Los individuos de este género son conocidos por tener como hospedador natural a las plantas de *T. cacao*, en los estadios inmaduros requieren cuidado maternal, ya que su enemigo natural son algunas especies de hormigas (Panizzi y Grazia, 2015b), Se caracteriza por tener una cabeza ovalada, márgenes anteoculares sinuosos, subparalelos y no reflejados. Ojos bien desarrollados y sobresalientes. Ocelos en la misma línea que el margen posterior de los ojos. Color de la cabeza igual al de la superficie dorsal. Antenas cubiertas de sátulas, pelos de menos del diámetro del segmento y descoloridos. El pronoto presenta un collar sobre la región de ajuste de la cabeza. Área de evaporación más oscura que el cuerpo, rugosa, con una superficie rugosa, cuenta con tres pares de patas y presenta una clásica simetría bilateral.

Daño en el cacao: Este chinche ataca a los pedúnculos y en la base de los frutos y es uno de los vectores de la moniliasis del cacao (Castillo et al., 2020).

3.3.6 *Lepturges* sp. (Fig. 17F)

Descripción: En los neotrópicos, estos individuos se han reportado como plagas de importancia para los cultivos. Se caracteriza por que el primer segmento antenal alcanza y algunas veces supera ligeramente el vértice de la cabeza; tiene el dorso coloreado en tonos amarillos, marrones o negros. La longitud del cuerpo es de 6.9-14.1 mm. La cabeza es casi tan larga como ancha a través de los ojos, tienen ocelos ubicados entre o detrás de la parte reticulada de los ojos. Segmento basal de antenas que casi alcanza el ápice de la cabeza o la supera ligeramente; los cuatro restantes son más largos que el primero. Cuentan con una membrana vítrea que cubre hasta el ápice del abdomen. Como particularidad tienen el margen posterior del piróforo en forma de V en vista caudal,

generalmente con muesca mesial pequeña, redondeada en vista dorsal.

Daño en el cacao: Tienen piezas bucales perforadoras y chupadoras perforan los tejidos de las plantas con sus estiletes, causando daños físicos que se asemejan a un pinchazo, además inyectan enzimas digestivas para ayudar a extraer los fluidos de la planta. Lo que resulta en una lesión en forma de manchas decoloradas en el fruto. Si no hay frutos disponibles, los chinches se alimentarán del crecimiento vegetativo, es decir de los brotes más jóvenes (Brennan y Liburd, 2012).

3.3.7 *Nasutitermes* sp. (Fig. 17G)

Descripción: Cabeza ovalada en terminación puntiaguda, tienen tergitos abdominales con pelos y son muy quebradizos. En vista dorsal, cápsula de la cabeza redonda; su margen posterior casi recto en el medio, apicalmente curvado hacia abajo. Antena con 13 artículos.

Daño en el cacao: Los nidos de estas especies están en el suelo muy cerca de un árbol de cacao o en la misma planta, causando daño al tronco ya que su dieta consiste en celulosa.

3.3.8 *Planococcus citri* (Risso, 1813) (Fig. 17H)

Descripción: La hembra en su estado de adulta tiene el color entre amarillo y marrón, de forma ovalada y con segmentación dorsal. Está recubierta de abundantes secreciones de cera de color blanco y polvoriento. Tiene patas, antenas, es móvil y secreta filamentos algodonosos que recubren la parte superficial de las hojas o tronco, los adultos llegan a medir 4 mm<.

Daño en el cacao: Al ingerir la sabia de los frutos o de las hojas, causan necrosis y dejan a la planta más vulnerable a infecciones producidas por microorganismos (Martínez et al., 2007).

3.3.9 *Xanthochillus* sp. (Figura 15 A) (Fig. 17I)

Descripción: la parte basal de las alas anteriores está engrosada, mientras que la parte apical es delgada y generalmente transparente. Las alas traseras son membranosas. Son insectos que pasan sus estadios en los frutos o en nuevos brotes. Esta especie es delicada y delgada, a veces manchadas dorsalmente. El color de los adultos es variable, tanto en machos como hembras, y puede ser entre rojo y negro. Cuando los adultos se observan al estereoscopio, la cabeza es negra y brillante. Las antenas se encuentran segmentadas y divididas en cuatro antenómeros.

Daño en el cacao: Los frutos tiernos que sufren picaduras por *Xanthochillus* sp., pueden sufrir pudrición y aborto. Los frutos en crecimiento presentan deformación y en casos severos se puede perder la mazorca. Las picaduras en brotes provocan quemado y marchitamiento. El ataque de este insecto favorece la infestación de *Monilia* y *Phytophthora* ya que las picaduras sirven como entrada a los hongos (Colonia-Coral, 2015).

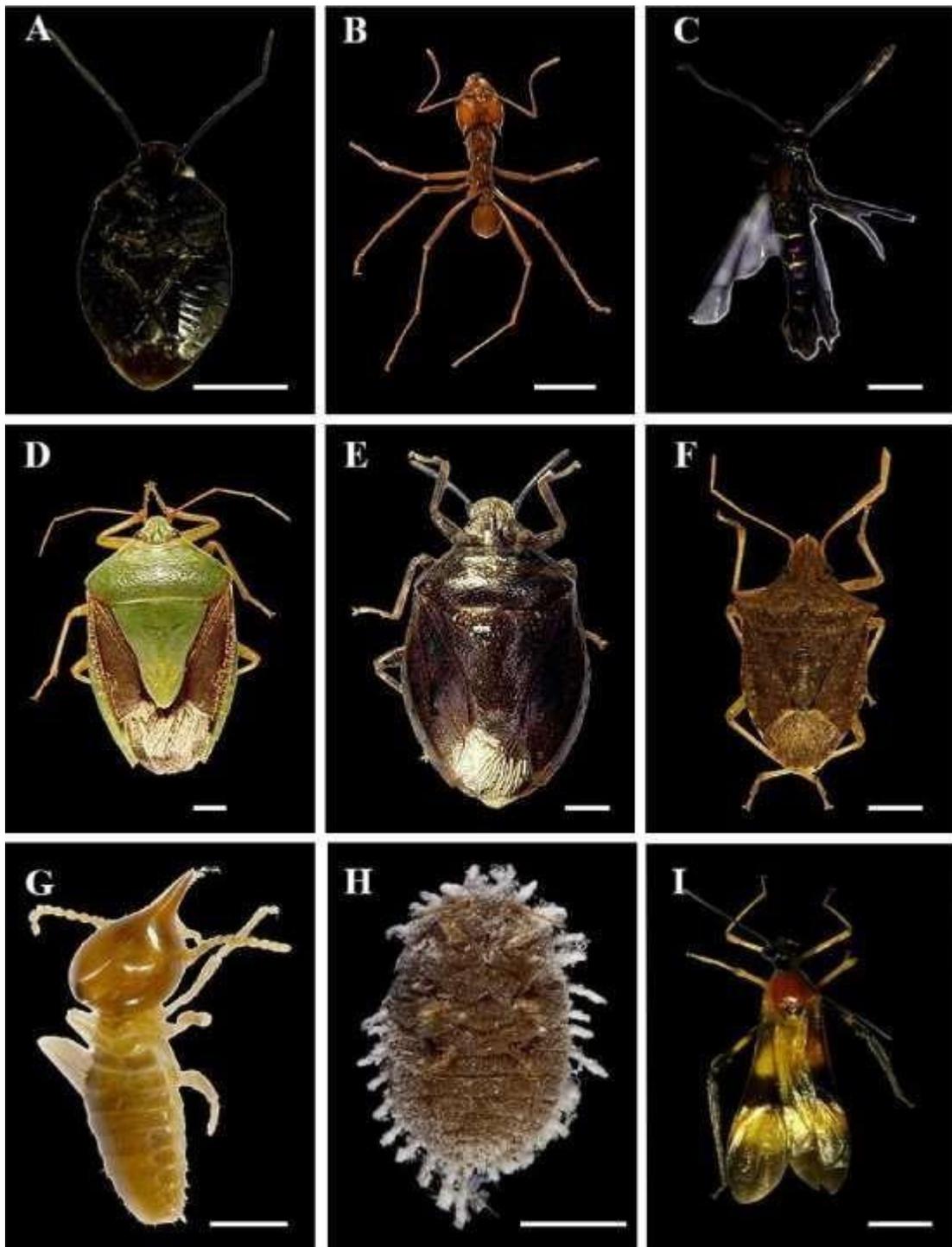


Figura 17. Vista dorsal de insectos obtenidas de cultivos de cacao. **A)** *Aphis fabae* (JM

09). **B)** *Atta cephalotes* (JM 06). **C)** *Carmenta foraseminis* (JM07). **D)** *Edessa mediatunda* (JM 04). **E)** *Halys* sp. (JM 03). **F)** *Lepturges* sp. (JM 05). **G)** *Nasutitermes* sp. (JM 01). **H)** *Planococcus citri* (JM 02). **I)** *Xanthochilus* sp. (JM 10). Escala representa 1mm.

3.4 Análisis morfológico de los microorganismos responsables de las enfermedades asociadas en plantas de cacao

3.4.1 *Colletotrichum* sp. (Fig. 18A)

Descripción: Cuenta micelio sumergido, ramificado, septado, hialino, marrón pálido o marrón oscuro. Setas en conidiomas o esclerocios, marrones, lisas, septadas, afiladas a los ápices. Conidióforos hialinos a pardos, septados, ramificados solo en la base, lisos, formados a partir de las células superiores de los conidiomas. En la placa Petri tiene crecimiento circular con base negruzca a marrón.

Daño en el cacao: Principal causante de antracnosis en las plantas, ataca a las hojas especialmente.

3.4.2 *Daldinia* sp. (Fig. 18B)

Descripción: Estroma negro, carbonoso, globoso o subgloboso a hemisférico, de hasta 3 cm de diámetro, compuesto íntegramente por tejido fúngico, asentado directamente sobre sustrato o con un pedúnculo corto. Centrum que contiene paráfisis filamentosas. En placa petri tiene un aspecto blanco y esponjoso, genera vacíos en la base, desprendiendo el agar de la placa, ya que es un hongo de crecimiento agresivo pero lento.

Daño en el cacao: Este género de hongo habita en el tronco del cacao y aprovecha cualquier tipo de disturbio provocado como un corte para colonizar la región y provocar infecciones que pueden comprometer a la planta.

3.4.3 *Diaporthe* sp. (Fig. 18C, D)

Descripción: Son cosmopolitas y se encuentran en el suelo y hasta en humanos cuentan con ascosporas superpuestas uniseriadas, biseriadas, causan daños en el tallo y frutos. En la placa Petri presenta sedimento negro y filamentos blancos, con múltiples esporas lo que permite su supervivencia.

Daño en el cacao: Causan el marchitamiento y consecuente muerte regresiva de la planta.

3.4.4 *Epicoccum* sp. (Fig. 18E)

Descripción: Crecen en sustratos naturales densamente empaquetados que cubren la superficie del estroma, en cultivo a menudo solitarios o en racimos densos, no ramificados u ocasionalmente ramificados, con los septos oscurecidos en los conidios maduros por la pared opaca rugosa. En la placa Petri tiene un aspecto plano y se adhieren al agar cambiándolo de color, tornándose totalmente negro.

Daño en el cacao: Causa necrosis en hojas y frutos jóvenes.

3.4.5 *Fusarium* sp. (Fig. 18F)

Descripción: Las especies de este género presenta una gran plasticidad morfológica que se ha llegado a considerar como especies distintas en sus diferentes estadios de crecimiento. *Fusarium* pertenece al orden Moniliales, a la Familia Tuberculariceae, su característica diferencial es que su forma microscópica basal es de forma de pie y sus conidias pueden llegar a ser de doble célula, en placas de agar son de color rosa en el centro y sus bordes amarillentos.

Daño en el cacao: Causa pudrición en los frutos, no permitiendo su desarrollo y se pierde la mazorca en su totalidad

3.4.6 *Lasiodiplodia* sp. (Fig. 18G)

Descripción: Su ascocarpo es color café oscuro a negro, con pared gruesa de color café oscuro y hialino en capas internas, de 250-400 μm de diámetro. El asca tiene 8 esporas, de 90-120 μm de longitud. Las ascosporas son biseriadas, hialinas y aseptadas. El conidiomata está siempre inmerso en el hospedero. Las colonias sembradas en medio de cultivo son moderadamente densas, con micelio aéreo, al inicio de su desarrollo son blancas volviéndose gris-olivo a los siete días y luego adquieren un color negro.

Daño en el cacao: Causa muerte regresiva en las ramas, igual que en el fruto que infecta, es una enfermedad iniciadora, que propicia la infección de enfermedades como moniliasis y la causadas por hongos del género *Fusarium*.

3.4.7 *Nectria* sp. (Fig. 18H)

Descripción: Presenta formaciones globulares y granulares con esporas recubiertas que les permiten sobrevivir en ambientes hostiles, en la placa Petri es de coloración marrón con crecimiento irregular y presenta coloración amarillenta a los extremos.

Daño en el cacao: Esta especie de hongo no actúa individualmente, para parasitar necesita de otros hongos como *Fusarium*, produce inicialmente nódulos en el tallo de la

planta y luego pudrición, por daño severo a la celulosa y finalmente la planta muere.

3.4.8 *Neocosmospora* sp. (Fig. 18I)

Descripción: En la placa Petri tiene coloración blanca con puntuaciones verdes, sus esporas son transparentes y es necesario un colorante como azul de metileno para su visualización.

Daño en el cacao: Este hongo es especialista en colonizar la corteza de las plantas, llega al punto de impedir las funciones de la corteza y deja la planta expuesta a más patógenos.

3.4.9 *Neodeightoria* sp. (Fig. 18J, K)

Descripción: Características similares a *Lasiodiplodia* sp. con la diferencia que *Neodeightoria* no presenta paráfisis por lo que su coloración no llega a ser negra, sino marrón oscuro.

Daño en el cacao: Causa muerte regresiva en las ramas, igual que en el fruto que infecta, es una enfermedad iniciadora, que propicia la infección de enfermedades como moniliasis y la causadas por hongos del género *Fusarium*.

3.4.10 *Stegonsporium* sp. (Fig. 18L)

Descripción: Micelio sumergido, ramificado, septado, hialino a marrón pálido de células pequeñas. Conidios obovoides a claviformes, con varios distosepta transversales y longitudinales, estructura obtusa en el ápice, truncada en la base. En la placa Petri forma anillos de base marrón y exteriores blanquecinos.

Daño en el cacao: Este género aprovecha los orificios de las picaduras de insectos y daña al fruto, volviéndolo inservible.



Figura 18. Vista superficial de las colonias aisladas cultivadas en PDA por 7 días a 27 °C. **A)** *Colletotrichum* sp. (JE 19). **B)** *Daldinia* sp. (JE 45). **C-D)** *Diaporthe* sp. (JE 08). **E)** *Epicoccum* sp. (JE 49). **F)** *Fusarium* sp. (JE 32). **G)** *Lasiodiplodia* sp. (JE 01). **H)** *Nectria* sp. (JE 33). **I)** *Neocosmospora* sp. (JE 34). **J-K)** *Neodeightoria* sp. (JE 04). **L)** *Stegonsporium* sp. (JE 44). Escalas representan 2 cm.

Encuentre a continuación el detalle de las colectas realizadas en este estudio:

Tabla 1. Lista de muestras de plagas de cacao colectadas en las regiones de Amazonas y San Martín.

Especies	Código	Lugar de colección	Fecha	Altitud (m.s.n.m)	Latitud (Sur)	Longitud (oeste)
<i>Nasutitermes</i> sp	JM1	Soledad, San Martín	Junio, 2018	384	7°21'55.96"	76°35'22.66"
<i>Planococcus Citri</i>	JM2	Soledad, San Martín	Junio, 2018	384	7°21'55.96"	76°35'22.66"
<i>Halys</i> sp	JM3	Soledad, San Martín	Junio, 2018	384	7°21'55.96"	76°35'22.66"
<i>Edessa_Meditabunda</i>	JM4	Soledad, San Martín	Junio, 2018	384	7°21'55.96"	76°35'22.66"
<i>Lepturges</i>	JM5	Soledad, San Martín	Junio, 2018	384	7°21'55.96"	76°35'22.66"
<i>Atta Cephalotes</i>	JM6	Soledad, San Martín	Junio, 2018	384	7°21'55.96"	76°35'22.66"
<i>Carmenta Foraseminis</i>	JM7	Tabalosos, San Martín	Junio, 2018	545	6°23'35.19"	76°37'46.71"
<i>Carmenta Foraseminis</i>	JM8	Tabalosos, San Martín	Junio, 2018	545	6°23'35.19"	76°37'46.71"
<i>Xanthochilus</i> sp	JM10	Hebrón, Amazonas	Julio de 2018	2402	5°43'20.25"	78°16'17.72"
<i>Lepturges</i> sp	JM11	Hebrón, Amazonas	Julio,2018	2402	5°43'20.25"	78°16'17.72"
<i>Halys</i> sp	JM12	Hebrón, Amazonas	Julio,2018	2402	5°43'20.25"	78°16'17.72"
<i>Xanthochilus</i> sp	JM13	Alto Amazonas, Amazonas	Julio,2018	1120	5° 43' 21.69"	78° 17' 2.72"
<i>Nasutitermes</i> sp	JM14	Alto Amazonas, Amazonas	Septiembre, 2018	1120	5° 43' 21.69"	78° 17' 2.72"
<i>Aphis Fabae</i>	JM15	Alto Amazonas, Amazonas	Septiembre, 2018	1120	5° 43' 21.69"	78° 17' 2.72"
<i>Atta Cephalotes</i>	JM16	Alto Amazonas, Amazonas	Septiembre, 2018	1120	5° 43' 21.69"	78° 17' 2.72"
<i>Halys</i> sp	JM17	Alto Naranjos, Amazonas	Septiembre, 2018	679	5°44'30.79"	78°21'29.07"
<i>Xanthochilus</i> sp	JM18	Alto Naranjos, Amazonas	Septiembre, 2018	679	5°44'30.79"	78°21'29.07"
<i>Halys</i> sp	JM19	La Concordia, Amazonas	Septiembre, 2018	1744	6° 0'10.74"	78°34'15.44"
<i>Xanthochilus</i> sp	JM20	La Concordia, Amazonas	Septiembre, 2018	1744	6° 0'10.74"	78°34'15.44"
<i>Xanthochilus</i> sp	JM21	La Cruz, Amazonas	Septiembre, 2018	580	5°40'38.32	78°23'56.38"
<i>Xanthochilus</i> sp	JM22	Diamante Bajo, Amazonas	Diciembre, 2018	1434	5°43'10.78"	78°20'29.07"
<i>Halys</i> sp	JM23	San José, Amazonas	Diciembre, 2018	560	5°42'58.69"	78°24'7.13"
<i>Halys</i> sp	JM24	San José, Amazonas	Diciembre, 2018	560	5°42'58.69"	78°24'7.13"
<i>Xanthochilus</i> sp	JM25	Copallín, Amazonas	Diciembre, 2018	550	5°40'17.90"	78°24'58.85"
<i>Halys</i> sp	JM26	Copallín, Amazonas	Diciembre, 2018	550	5°40'17.90"	78°24'58.85"

Tabla 2. Lista de muestras de enfermedades de cacao colectadas en las regiones de Amazonas y San Martín.

Especies	Código	Lugar de colección	Fecha	Altitud (m.s.n.m)	Latitud (Sur)	Longitud (oeste)
<i>Lasiodiplodia</i> sp	JE1	Soledad, San Martín	Junio, 2018	384	7°21'55.96"	76°35'22.66"
<i>Lasiodiplodia_Theobromae</i>	JE2	Soledad, San Martín	Junio, 2018	384	7°21'55.96"	76°35'22.66"
<i>Lasiodiplodia_Theobromae</i>	JE3	Soledad, San Martín	Junio, 2018	384	7°21'55.96"	76°35'22.66"
<i>Neodeightonia</i> sp	JE4	Soledad, San Martín	Junio, 2018	384	7°21'55.96"	76°35'22.66"
<i>Lasiodiplodia_Theobromae</i>	JE5	Soledad, San Martín	Junio, 2018	384	7°21'55.96"	76°35'22.66"
<i>Fusarium Solani</i>	JE6	Soledad, San Martín	Junio, 2018	384	7°21'55.96"	76°35'22.66"
<i>Fusarium Solani</i>	JE7	Soledad, San Martín	Junio, 2018	384	7°21'55.96"	76°35'22.66"
<i>Diaporthe Eres</i>	JE8	Copallín, Amazonas	Julio, 2018	550	5°40'17.90"	78°24'58.85"
<i>Diaporthe</i> sp	JE9	Copallín, Amazonas	Julio,2018	550	5°40'17.90"	78°24'58.85"
<i>Diaporthe</i> sp	JE10	Copallín, Amazonas	Julio,2018	550	5°40'17.90"	78°24'58.85"
<i>Fusarium Solani</i>	JE11	Cumba, Amazonas	Julio,2018	485	5°55'57.11"	78°39'40.31"
<i>Lasiodiplodia</i> sp	JE12	Cumba, Amazonas	Julio,2018	485	5°55'57.11"	78°39'40.31"
<i>Fusarium</i> sp	JE13	Cumba, Amazonas	Julio,2018	485	5°55'57.11"	78°39'40.31"
<i>Fusarium</i> sp.	JE14	Cumba, Amazonas	Julio,2018	485	5°55'57.11"	78°39'40.31"
<i>Lasiodiplodia</i> sp	JE15	Cumba, Amazonas	Julio,2018	485	5°55'57.11"	78°39'40.31"
<i>Lasiodiplodia</i> sp	JE16	Cumba, Amazonas	Julio,2018	485	5°55'57.11"	78°39'40.31"
<i>Lasiodiplodia_Theobromae</i>	JE17	Cumba, Amazonas	Julio,2018	485	5°55'57.11"	78°39'40.31"
<i>Lasiodiplodia_Theobromae</i>	JE18	Cumba, Amazonas	Julio,2018	485	5°55'57.11"	78°39'40.31"
<i>Colletotrichum</i> sp.	JE19	Copallín, Amazonas	Julio,2018	550	5°40'17.90"	78°24'58.85"
<i>Lasiodiplodia_Theobromae</i>	JE20	Siasme, Amazonas	Julio,2018	230	4°49'10.09"	77°57'37.66"
<i>Lasiodiplodia_Theobromae</i>	JE21	Diamante Alto, Amazonas	Julio,2018	1123	5°42'4.42"	78°20'43.75"
<i>Lasiodiplodia_Theobromae</i>	JE22	Diamante Alto, Amazonas	Julio,2018	1123	5°42'4.42"	78°20'43.75"
<i>Fusarium Solani</i>	JE23	Diamante Alto, Amazonas	Julio,2018	1123	5°42'4.42"	78°20'43.75"
<i>Lasiodiplodia_Theobromae</i>	JE24	Diamante Alto, Amazonas	Julio,2018	1123	5°42'4.42"	78°20'43.75"
<i>Lasiodiplodia_Theobromae</i>	JE25	Alto Amazonas, , Amazonas	Julio,2018	1120	5° 43' 21.69"	78° 17' 2.72"

Especies	Código	Lugar de colección	Fecha	Altitud (m.s.n.m)	Latitud (Sur)	Longitud (oeste)
<i>Lasiodiplodia_Theobromae</i>	JE26	Alto Amazonas, Amazonas	Julio,2018	1120	5° 43' 21.69"	78° 17' 2.72"
<i>Neodeightoria</i> sp	JE27	Diamante Alto, Amazonas	Septiembre, 2018	1123	5°42'4.42"	78°20'43.75"
<i>Neodeightoria</i> sp	JE28	Diamante Alto, Amazonas	Septiembre, 2018	1123	5°42'4.42"	78°20'43.75"
<i>Lasiodiplodia_Theobromae</i>	JE29	Copallín, Amazonas	Septiembre, 2018	550	5°40'17.90"	78°24'58.85"
<i>Daldinia</i> sp	JE30	San Juan de la Libertad, Amazonas	Septiembre, 2018	1002	5°41'17.99"	78°22'11.71"
<i>Lasiodiplodia_Theobromae</i>	JE31	Lluhuana, Amazonas	Septiembre, 2018	851	5°40'38.71"	78°23'54.76"
<i>Fusarium</i> sp	JE32	Hebrón, Amazonas	Septiembre, 2018	2402	5°43'20.25"	78°16'17.72"
<i>Nectria</i> sp	JE33	Hebrón, Amazonas	Septiembre, 2018	2402	5°43'20.25"	78°16'17.72"
<i>Neocosmospora</i> sp	JE34	La Cruz, Amazonas	Septiembre, 2018	580	5°40'38.32	78°23'56.38"
<i>Lasiodiplodia_Theobromae</i>	JE35	Quebrada Seca, Amazonas	Septiembre, 2018	543	5°42'54.82"	78°28'36.50"
<i>Fusarium</i> sp	JE36	El Chalán, Amazonas	Septiembre, 2018	558	5°41'30.75"	78°24'23.03"
<i>Neodeightoria</i> sp	JE37	El Chalán, Amazonas	Septiembre, 2018	588	5°41'30.75"	78°24'23.03"
<i>Fusarium</i> sp	JE38	El Chalán, Amazonas	Septiembre, 2018	588	5°41'30.75"	78°24'23.03"
<i>Fusarium</i> sp	JE39	Diamante Alto, Amazonas	Septiembre, 2018	1123	5°42'4.42"	78°20'43.75"
<i>Lasiodiplodia</i> sp	JE40	La Cruz, Amazonas	Septiembre, 2018	580	5°40'38.32	78°23'56.38"
<i>Fusarium Equiseti</i>	JE41	La Concordia, Amazonas	Diciembre, 2018	1744	6° 0'10.74"	78°34'15.44"
<i>Fusarium</i> sp	JE42	Diamante Alto, Amazonas	Diciembre, 2018	1123	5°42'4.42"	78°20'43.75"
<i>Fusarium</i> sp	JE43	La Concordia, Amazonas	Diciembre, 2018	1744	6° 0'10.74"	78°34'15.44"
<i>Stegonsporium</i> sp	JE44	El Chalán, Amazonas	Diciembre, 2018	588	5°41'30.75"	78°24'23.03"
<i>Daldinia</i> sp	JE45	Lluhuana, Amazonas	Diciembre, 2018	851	5°40'38.71"	78°23'54.76"
<i>Colletotrichum</i> sp	JE46	Lluhuana, Amazonas	Diciembre, 2018	851	5°40'38.71"	78°23'54.76"
<i>Fusarium Solani</i>	JE47	Alto Amazonas, Amazonas	Diciembre, 2018	1120	5° 43' 21.69"	78° 17' 2.72"
<i>Fusarium</i> sp	JE48	Alto Amazonas, Amazonas	Diciembre, 2018	1120	5° 43' 21.69"	78° 17' 2.72"
<i>Epicoccum</i> sp	JE49	Alto Amazonas, Amazonas	Diciembre, 2018	1120	5° 43' 21.69"	78° 17' 2.72"
<i>Fusarium</i> sp	JE50	San José, Amazonas	Diciembre, 2018	560	5°42'58.69"	78°24'7.13"
<i>Fusarium</i> sp	JE51	Lluhuana, Amazonas	Diciembre, 2018	851	5°40'38.71"	78°23'54.76"
<i>Fusarium Equiseti</i>	JE52	El Chalán, Amazonas	Diciembre, 2018	588	5°41'30.75"	78°24'23.03"

IV. DISCUSIÓN

4.1 Plagas asociadas al cacao en la zona Nororiental del Perú

Las plagas asociadas al cacao son diversas y generan grandes pérdidas económicas para los agricultores de esta industria (Cerrón, 2012). Las plagas más importantes y las de mayor distribución son la de los insectos míridos (ejem., *Helopeltis* y el barrenador de la mazorca son las plagas), además de las cochinillas harinosas (Pests and Diseases of Cocoa, 2013). También existen otros grupos de insectos perjudiciales específicos tales como áfidos, chinches, hormigas y trips (Cerrón, 2012). Estas plagas suelen ser identificadas mediante el uso de técnicas tradicionales en base a su morfología; sin embargo, la plasticidad fenotípica de estos insectos conlleva a una identificación subjetiva y errónea en la mayoría de los casos (Zhi-qin *et al.*, 2006). Esto sugiere el uso de técnicas complementarias, como las que hacen uso de herramientas moleculares para la identificación objetiva de plagas que puedan estar mermando la productividad y calidad del cacao (Cerrón, 2012). Por ello, es importante determinar la diversidad de plagas asociadas a las plantas de cacao para conocer la diversidad involucrada y tomar las medidas de control necesarias (Franck *et al.*, 2017). En este sentido, el presente estudio caracterizó molecularmente la diversidad de plagas asociadas a plantas del cacao de la zona nororiental del Perú.

Se identificaron un total de nueve especies de insectos con potencial de plaga asociados a las plantas de cacao por su abundancia y daño generado mediante la disminución de la producción, reducción de la calidad, retraso de la producción, y a veces la muerte de la planta. Las especies encontradas en este estudio fueron *Aphis fabae*, *Atta cephalotes*, *Carmenita foraseminis*, *Edessa meditabunda*, *Halys* sp., *Lepturges* sp., *Nasutitermes* sp., *Planococcus citri* y *Xanthochillus* sp. Estas plagas han sido reportadas previamente por Cerrón (2012), Dueñas (2019) y Alomía *et al.* (2021) en Brasil, Côte d'Ivoire y Ghana, que son los países productores predominantes de cacao del mundo. Sin embargo, *Lepturges* sp. y *Edessa meditabunda*, especies de chinches, fueron reportados por primera vez en este estudio como plagas potenciales en el cultivo de cacao. La primera fue encontrada en las provincias de Utcubamba, Amazonas y en Mariscal Cáceres, San Martín. Esta especie ha sido extensivamente encontrada en cultivos de higos en México (de los Santos, 2019) y este estudio la reporta en cultivos de cacao. Por otro lado, *E. meditabunda* fue colectada en la región de San Martín. Esta especie ha sido comúnmente reportada en Brasil, incluyendo a varios hospederos, dentro de ellos al cacao (Plantwise,

2022). En Perú, esta plaga ha sido reportada en otros cultivos como el Camu Camu (Quispe-Suarez et al., 2020) y con este estudio se confirma su expansión en distribución hacia los cultivos de cacao del nororiente del Perú.

El presente estudio también confirma la presencia de individuos de los géneros *Halys* y *Xanthochilus* (chinchas chupadores) como las plagas más predominantes a lo largo de la zona nororiental. Las especies del género *Halys* son reportadas por primera vez como plaga del cacao en Perú. En este género se identificaron tres linajes diferentes con divergencias genéticas mayores a 16.7% pero con características morfológicas muy similares que no se hubieron podido distinguir con técnicas tradicionales (Zhi-qin et al., 2006). Especies de este género *Halys* han sido reportadas en países del hemisferio norte, siendo de preocupación primaria en la India al afectar cultivos de la planta medicinal *Azadirachta indica* (Dhiman, 2004). Adicionalmente, especies del género *Xanthochilus* fueron las más predominantes en los cultivos de cacao. Estas especies de insecto generan severos daños en brotes de hojas y frutos de cultivos de cacao (Colonia-Coral, 2015), previamente fueron reportadas en Hungría, aunque no como plaga de cultivos sino como organismos de vida libre (Torma y Galle, 2011).

Otro grupo de insectos con potencial de plaga fueron especies las del género *Nasutitermes* que fueron encontradas en los departamentos de Amazonas y San Martín. Estos insectos son conocidos como comején y han sido reportado como plaga del cacao en Ecuador (Mora, 2008) y Venezuela (Sanchez y Capriles, 1979). Sin embargo, este es el primer reporte en cultivos de cacao del Perú. Previamente fueron reportados en el Perú como insectos que afectaban los cultivos para la producción de vid (Cáceres-Yparraguirre y Julca-Otiniano, 2018).

Los insectos *Aphis fabae*, *Atta cephalotes*, *Carmenta foraseminis* y *Planococcus citri*, fueron identificadas mediante el uso de claves taxonómicas especializadas (Linnaeus, 1758; Morán-Rosillo, 2014; Turpeau et al., 2014), puesto que no se pudo obtener los amplicones del marcador COI. *A. fabae* fue encontrada en la región de Amazonas, mientras que *A. cephalotes* fue ampliamente distribuida en los departamentos de San Martín y Amazonas. Previamente estas especies fueron reportadas como plagas del cacao en Bolivia y en la zona Nororiental del Perú (Ardaya, 2005) y también afectando a la caña en Perú (Ayquipa y Cueva, 1979). Por otro lado, no se encontraron especímenes de *Carmenta foraseminis* en Amazonas, pero sí en San Martín siendo una plaga prioritaria en esa región (Dávila, 2018). En este estudio, *Planococcus citri* fue reportada como plaga

únicamente para la región San Martín. Esta especie fue dada a conocer por vez primera para los cultivos de cacao, ya que entre sus hospederos más comunes resaltan los viñedos de Brasil (Fernandes et al., 2016), manzanos de Perú (De la Cruz y Chumpitaz, 1996). Esta plaga es de preocupación en el cultivo de cacao fuera del Perú ya que son vectores de infecciones por virus (Obok et al., 2018). Los problemas de amplificación de marcadores moleculares para *Aphis fabae*, *Atta cephalotes*, *Carmenta foraseminis* y *Planococcus citri* pueden ocurrir por la abundancia de queratina o la poca especificidad de los primers en el proceso de amplificación del ADN (Campos y Gilbert, 2012). A pesar de incluir modificaciones en las concentraciones de ADN, temperaturas y tiempos de los protocolos de amplificación, y además de seguir las instrucciones de Song et al., (2016), no se pudo obtener la información genética del marcador COI para estas especies. Muestras adicionales de estas especies nos permitirán obtener una mejor calidad de ADN para su identificación molecular (Schneider et al., 2018). Es crucial identificar molecularmente estas especies de insectos para un adecuado control de los cultivos de cacao, ya que generan disminución de la producción, reducción de la calidad, retraso de la producción, e incluso la muerte de la planta y por lo tanto pérdidas económicas para los productores (INATEC-Nicaragua, 2016).

4.2 Enfermedades asociadas al cacao en la zona Nororiental del Perú

Las enfermedades causadas por hongos han dañado la producción de cacao hasta en un 30% del potencial de producción (Jaimes y Aranzazu, 2010). Una de las enfermedades más importantes de hongos es la provocada por *Moniliophthora roreri* que es un hongo momificador y que genera la pérdida total de la mazorca de cacao (Phillips-Mora et al., 2007; Suárez-Contreras, 2016). Otro hongo que causan pérdidas significativas en cultivos de cacao y con incidencia en América en los países como Brasil e incluso en Perú, son los del género *Phytophthora*, que son hongos de putrefacción (Alomía et al., 2021). La identificación de estas enfermedades son clave para el control y amortización de daños (Parra et al., 2009). Esta identificación se desarrolla tradicionalmente por patrones morfológicos a lo largo del proceso de colecta, cultivo, aislamiento y observaciones macro y microscópicas (Parra et al., 2009). Este tipo de identificación presenta imprecisiones por la gran plasticidad morfológica de las estructuras anatómicas de los hongos que inclusive varían dependiendo de la etapa de desarrollo (Cooke et al., 2000; Hassan et al., 2018). Estas imprecisiones pueden ser evitadas mediante el uso de herramientas moleculares para la caracterización de la diversidad de microorganismos

(Pereira et al., 2005; Simbana et al., 2015; Obok et al., 2018).

En este estudio, se identificaron las siguientes 10 especies de enfermedades asociados principalmente a los frutos del cacao: *Colletotrichum* sp., *Daldinia* sp., *Diaporthe* sp., *Epicoccum* sp., *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp., *Nectria* sp., *Neocosmospora* sp., *Neodeightoria* sp. y *Stegonsporium* sp. Los síntomas más comunes de estas enfermedades son la pudrición y/o momificación principalmente de la mazorca y en algunos casos los troncos de la planta. Estas especies, que generan enfermedades en cada zona productora de cacao, han sido reportadas ampliamente en el Perú (Ploetz, 2016; Gonzáles-Ruíz, 2019).

Entre los organismos fúngicos de mayor incidencia en la zona nororiental del Perú se reportó a las especies de los géneros *Lasiodiplodia* y *Fusarium* siendo registradas en 19 puntos de colecta a lo largo de las regiones de Amazonas y San Martín. La especie *Lasiodiplodia theobromae* genera una infección masiva con hifas prolongadas muy similares a las generadas en la moniliasis del cacao y que se atribuye a la proliferación de *Moniliophthora roreri* (Jaimes y Aranzazu, 2010). La confirmación de *L. theobromae* mediante el uso de herramientas moleculares sugiere que probablemente los reportes de grandes pérdidas por enfermedades a frutos en el cultivo del cacao no solo es consecuencia de *M. roreri* (Jaimes y Aranzazu, 2010). A pesar que las grandes pérdidas en la producción de cacao en Colombia (70%) y Perú, específicamente en las regiones de San Martín y Amazonas (80%), son atribuidas a la moniliasis (Jaimes y Aranzazu, 2010; Cerrón, 2012); *L. theobromae* podría ser el agente causal de esta enfermedad en la zona nororiental.

Adicionalmente, un caso muy similar ocurre con las especies del género *Fusarium*. Los cinco linajes de *Fusarium* identificados molecularmente en el presente estudio no pudieron ser diferenciados morfológicamente (Fig. 14). La sintomatología de la enfermedad de estos linajes de *Fusarium* se asemeja mucho a los producidos por los hongos pertenecientes al género *Phytophthora*, los cuales son responsables de la pudrición de muchos cultivos de cacao en África y América (Cooke et al., 2000; Rahman et al., 2014). Las consecuencias de la enfermedad del género *Phytophthora* la colocan en la tercera de mayor relevancia. Un ejemplo de ello se refleja en Satipo, Junín donde se reportó pérdidas del 50% por culpa de *Phytophthora* (Cerrón, 2012; Alomía et al., 2021). Sin embargo, el agente causal de esta enfermedad en la zona nororiental podría ser consecuencia de los cinco linajes de *Fusarium*.

El presente estudio identificó otras enfermedades en los cultivos de cacao de menor incidencia. Por ejemplo, *Colletotrichum* sp. es una especie colectada en Bagua, Amazonas y causa antracnosis dificultando la fotosíntesis (Carbajal, 2017). Este hongo ya había sido reportado en la región San Martín, pero infectando cultivos de café (Carbajal, 2017). Esto genera preocupación ya que sus infecciones se podrían expandir a otros cultivos de vital importancia en la región nororiental del Perú.

Las especies de los géneros *Daldinia*, *Diaporthe*, *Epicoccum*, *Nectria*, *Neocosmospora*, *Neodeighthoria* y *Stegonsporium* son reportados por primera vez para cultivos de cacao en el Perú. La mayoría de estos especímenes fueron reportados en cultivos de cacao en China (Ploetz, 2016), Ecuador (Moya, 2016), México (González-Ruíz, 2019), Puerto Rico y Tailandia (Simbana et al., 2015; Senanayake et al., 2017). La mayoría de estos hongos generan pudrición, marchitamiento y necrosis en los troncos, hojas y frutos del cacao. Este estudio confirma la presencia de una gran diversidad "oculta" de hongos como agentes infecciosos de enfermedades en los cultivos de cacao. Esto confirma el limitado entendimiento de los agentes que causan estas enfermedades y la gran importancia de las herramientas moleculares (Simbana et al., 2015).

Finalmente, es importante recalcar que este estudio cumplió con caracterización de las plagas y enfermedades que perjudican al cultivo de cacao con el uso de herramientas moleculares. Esta caracterización permitirá que tomadores de decisiones (ejem., líderes de productores de cacao) e investigadores puedan planificar y desarrollar mecanismos de control sustentable (ejem., control biológico) y otras investigaciones para evitar que los agricultores vean perjudicados sus cultivos de cacao por estos organismos.

V. CONCLUSIONES

- Por mucho tiempo los análisis morfológicos han sido las técnicas de identificación tradicional tanto de plagas como de enfermedades que atacan los cultivos del cacao. A pesar de su relativa utilidad, es fundamental el uso de herramientas moleculares para eliminar las imprecisiones de estas técnicas tradicionales en la caracterización de la diversidad.
- Siete plagas de cultivos de cacao identificadas en este estudio con el uso de herramientas moleculares han sido reportadas ampliamente en otros países productores de cacao (*Aphis fabae*, *Atta cephalotes*, *Carmenta foraseminis*, *Halys*

sp., *Nasutitermes* sp., *Planococcus citri*, *Xanthochilus* sp.) Sin embargo, dos plagas adicionales conformadas por *Edessa mediatubunda* y *Lepturges* sp. fueron reportados por primera vez en cultivos de cacao en las regiones de Amazonas y San Martín.

- Las dos enfermedades de mayor incidencia fueron las generadas por las especies de los géneros *Lasiodiplodia* y *Fusarium*. La sintomatología de estas enfermedades presenta una elevada similitud con las enfermedades generadas por *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora roreri*, respectivamente. Esto sugeriría que las grandes pérdidas generadas por estas enfermedades se deben a hongos nunca antes tomados en consideración. Por otro lado, otras enfermedades con mucha menor incidencia se debieron a las especies de los géneros *Daldinia*, *Diaporthe*, *Epicoccum*, *Nectria*, *Neocosmospora*, *Neodeighoria* y *Stegonsporium* que generalmente causan pudrición o antracnosis, incluso hinchamiento en diferentes partes de la planta de cacao.
- A pesar de la gran precisión de las herramientas moleculares en el proceso de caracterización de plagas y enfermedades asociados a los cultivos de cacao existen algunas dificultades para la amplificación de ciertos marcadores, tales como la presencia de ciertos inhibidores de las reacciones debido a compuestos activos generados por hongos o la abundancia de queratina de las plagas, o quizá por la falta de especificidad de los primers que limitan la generación del amplicón.
- Por mucho tiempo la morfología ha sido la metodología para identificar las plagas que atacan al cacao y aunque ha sido de mucha utilidad, la herramienta molecular ha tomado relevancia por lo que este estudio fusionó ambos aspectos para lograr la correcta identificación.

VI. RECOMENDACIONES

- Los resultados de esta investigación se deben tomar en consideración para acciones de control de plagas y enfermedades asociados a los cultivos de cacao puesto que el uso de herramientas moleculares en la caracterización de esta diversidad elimina imprecisiones presentes por técnicas tradicionales como los análisis morfológicos.

- Se sugiere proponer mecanismos de control de plagas y enfermedades teniendo en consideración los barcodes generados por los análisis moleculares de este estudio para maximizar los recursos y afrontar correctamente las pérdidas generadas en los cultivos de cacao.
- Se recomienda el uso de marcadores moleculares alternativos de origen nuclear, primers más específicos y protocolos de amplificación selectivos para la caracterización molecular de los organismos que no pudieron ser amplificados en el presente estudio.
- Se recomienda ampliar los tiempos de colecta de plagas y enfermedades asociadas a los cultivos de cacao para poder tener información más detallada de la fenología de cada uno de los organismos evaluados para la prevalencia durante los ciclos de producción de cacao.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, A. F. De, y Valle, R. R. (2008). Ecophysiology of the cacao tree. *Journal of Plant Physiology*, 19(i), 425-448. <http://www.scielo.br/pdf/bjpp/v19n4/a11v19n4.pdf>
- Alomía, J., Alomía, C., y Vega, B. (2021). Carmenta foraseminis Eichlin and Phytophthora palmivora on fruits of Theobroma cacao L. in Satipo, Peru. *Manglar*, 18(3), 283–288. <https://doi.org/10.17268/manglar.2021.037>
- Ardaya, V. (2005). *Aplicacion de tres insecticidas naturales en el control del tujo (Atta spp.) en el cultivo de cacao en la region de Alto Beni* [Universidad Mayor de San Andrés]. <https://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/11696>
- Ayquipa, G. E., y Cueva, M. A. (1979). Nombres científicos y comunes de los insectos que atacan a la caña de azúcar en el Perú. *Rev. Peru. Entomol.*, 22(1), 95–97.
- Basri, Harli, Indrabayu, y Intan. (2019). Image Processing System for Early Detection of Cocoa Fruit Pest Attack. *Journal of Physics: Conferences Series*. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1244/1/012003>
- Brandt, M. E., y Warnock, D. W. (2015). Taxonomy and Classification of Fungi. En *Manual of Clinical Microbiology* (11.^a ed., pp. 1935-136). <https://doi.org/10.1128/9781555817381.ch113>
- Brennan, S., Eger, J., y Liburd, O. (2012). *Featured creatures*. EENY-523. http://entnemdept.ufl.edu/creatures/field/bugs/euschistus_quadrator.htm
- Cacao-México. (2019). *Principales países productores de cacao*. Principales países productores de cacao. https://cacaomexico.org/?page_id=201
- Cáceres-Yparraguirre, H., y Julca-Otiniano, A. (2018). Caracterización y tipología de fincas productoras de vid para Pisco en la región Ica-Perú. *Idesia (Arica), ahead*, 0–0. <https://doi.org/10.4067/s0718-34292018005001002>
- Campos, P. F., y Gilbert, T. M. P. (2012). DNA Extraction from Keratin and Chitin. In *Ancient DNA: Methods in Molecular Biology* (Vol. 840, Issue Chapter 6, pp. 43–49). <https://doi.org/10.1007/978-1-61779-516-9>
- Carbajal, F. (2017). *Identificación de hongos endófitos y su uso en la bioproteccion de plántulas de café para reducir el daño de colletotrichum coffeanum en san martin - Perú* [Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto]. <https://tesis.unsm.edu.pe/handle/11458/2418>

- Carrasco, F. (1962). La Hormiga “Cuqui” *Atta sexdens fuscata* Santschi (Formicidae) grave problema entomológico para los cultivos tropicales. *Revista Peruana de Entomología Agrícola*, 5(1), 94–97. <https://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/entomologia/v05/pdf/a07v05.pdf>
- Carrera Sánchez, K., Mosquera Paredes, L., & Leiva Mora, M. (2014). Protocolo para el aislamiento de *Moniliophthora roreri* (Cif y Par) Evans et al . en frutos de cacao cv. ‘Nacional’ de la Amazonía ecuatoriana al. from cacao fruits cv. ‘National’ in the Ecuadorian Amazonia. *Bioteología Vegetal*, 14(3), 147–150. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/download/67/56>
- Castillo, P., Sernaqué, A., y Purizaga, J. (2020). *Record of the cacao bug , Antiteuchus tripterus (Fabricius 1787) (Hemiptera : Pentatomidae) , in Tumbes Peru. April.* https://www.researchgate.net/profile/Castillo_Carrillo/publication/340902342_Record_of_the_cacao_bug_Antiteuchus_tripertus_Fabricius_1787_Hemiptera_Pentatomidae_in_Tumbes_Peru/links/5ea33123299bf112560c1bd7/Record-of-the-cacao-bug-Antiteuchus-tripterus-Fabricius-1787-Hemiptera-Pentatomidae-in-Tumbes-Peru.pdf
- Cerrón, G. (2012). Guía técnica «*asistencia técnica dirigida en manejo del cultivo de cacao*» (Agrobanco (ed.); Vol. 91). https://www.agrobanco.com.pe/wp-content/uploads/2017/07/010-f-cacao_CULTIVOS_.pdf
- Choate, P. M. (2003). Introduction to the Identification of Insects and Related Arthropods. En *Insect Identification* - (Número 1987). <http://entnemdept.ufl.edu/choate/insectid.pdf>
- Colonia-Coral, L. M. (2015). Guía técnica: Asistencia técnica dirigida en poda y sanidad en el cultivo de cacao. En *Guías técnicas* (Guías técnicas, Vol. 53, Número 9). <http://publications.lib.chalmers.se/records/fulltext/245180/245180.pdf%0Ahttps://hdl.handle.net/20.500.12380/245180%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.jsames.2011.03.003%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.gr.2017.08.001%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.precamres.2014.12.0>
- Cooke, D. E. L., Drenth, A., Duncan, J. M., Wagels, G., y Brasier, C. M. (2000). A molecular phylogeny of phytophthora and related oomycetes. *Fungal Genetics and Biology*, 30(1), 17-32. <https://doi.org/10.1006/fgbi.2000.1202>
- Dávila, K. (2018). *control biológico del mazorquero del cacao (Carmenita foraseminis), utilizando dos cepas nativas de Beauveria bassiana, región San Martín* [Universidad Nacional de Tarapoto]. https://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/handle/11458/3032/AGRONOMIA_-_Keysi_Davila_Tafur.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- de la Cruz, C., y Chumpitaz, J. (1996). *Planococcus citri* como plaga del manzano en el Valle de Mala. *Revista Peruana de Entomología*, 39(1).
<https://revperuentomol.com.pe/index.php/rev-peru-entomol/article/view/75>
- de los Santos, E. (2019). *Dinámica poblacional de barrenadores de ramas coleoptera: cerambycidae en higo, ficus carica l. fagaceae en dos municipios de morelos* [Universidad autónoma del estado de Morelos].
<http://riaa.uaem.mx/xmlui/handle/20.500.12055/1004?show=full>
- Dhiman S.C., Y. Y. K. (2004). Studies on Parasitoids of *Halys dentatus* Fabr. (Heteroptera: Pentatomidae) and their bio-control Efficacy. *Annals of Plant Protection Sciences*, 12(2), 260–262.
<https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:appsyvolume=12yissue=2yarticle=006>
- Dietrich, C. . (2005). *Keys to the families of cicadomorpha and subfamilies and tribes of cicadellidae (Hemiptera: Auchenorrhyncha)* (Vol. 88, Número December).
<http://journals.fcla.edu/flaent/article/view/75474>
- Dueñas, R. (2019). Facultad de ciencias ambientales carrera profesional de ingeniería ambiental [Universidad Científica del Sur]. In *Universidad Científica del Sur. Facultad de Ciencias Ambientales. Ingeniería Ambiental*.
<http://repositorio.cientifica.edu.pe:8080/handle/UCS/710>
- Eichlin, T. D. (1995). A new Panamanian Clearwing Moth (Sesiidae: Sesiinae). *Journal of the Lepidopterists' Society*, 49, 39–42.
- Entwistle, P. F., Johnson, C. ., y Dunn, E. (1959). New pests of Cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Nature*, 184, 2040. <https://www.nature.com/articles/1842040a0#Abs1>
- Fernandes, M., Morais, J., Costa, V., y de Menezes, K. (2016). Coccidoxenoides perminutus parasitizing *Planococcus citri* on vine in Brazil. *Ciência Rural*, 46(7), 1130–1133. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20150357>
- Franck, P., Maalouly-Matar, M., y Olivares, J. (2017). Molecular tools for the detection and the identification of hymenoptera parasitoids in tortricid fruit pests. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(10).
<https://doi.org/10.3390/ijms18102031>
- Gestión. (2019). *Agroexportaciones sumaron US\$ 7,030 millones en 2018, ¿qué productos tuvieron más ventas?*

- <https://doi.org/https://gestion.pe/economia/agroexportaciones-sumaron-us-7-030-millones-2018-productos-tuvieron-ventas-254606-noticia/>
- González- Ruíz, A. (2019). *Hongos asociados a la pudrición del cacao Theobroma cacao L. en el soconusco, chiapas y patogenicidad y control in vitro de Nodulosporium*. [Universidad autónoma agraria Antonio Narro]. [http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/46232/González Ruíz Aideé.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/46232/González_Ruiz_Aideé.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Hassan, O., Jeon, J. Y., Chang, T., Shin, J. S., y Oh, N. K. (2018). Molecular and Morphological Characterization of Colletotrichum Species in the Colletotrichum gloeosporioides Complex Associated with Persimmon Anthracnose in South Korea. *Plant Disease, May*, 1015-1024. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-17-1564-RE>
- ICCO. (2018). *Production of cocoa beans: Vol. XLIV* (Número 3). https://www.icco.org/about-us/international-cocoa-agreements/cat_view/30-related-documents/46-statistics-production.html
- INATEC-Nicaragua. (2016). *Manejo integrado de plagas*. https://www.jica.go.jp/project/nicaragua/007/materials/ku57pq0000224spz-att/Manual_de_Manejo_Integrado_de_Plagas_Part1.pdf
- INDECOPI. (2016). *Atrás El Indecopi entrega décima Denominación de Origen Cacao Amazonas Perú que contribuirá al desarrollo económico de más de 1,200 productores*. https://www.indecopi.gob.pe/inicio/-/asset_publisher/ZxXrtRdgbv1r/content/el-indecopi-entrega-decima-denominacion-de-origen-cacao-amazonas-peru-que-contribuira-al-desarrollo-economico-de-mas-de-1-200-productores?inheritRedirect=false
- Jaimes, Y., y Aranzazu, F. (2010). *Manejo de las enfermedades del cacao (Theobroma cacao) en Colombia, con énfasis en monilia (Moniliophthora roreri)* (Vol. 4, Issue 1).
- Kumar, S., Stecher G. y Tamura K. (2016). MEGA7: Análisis de Genética Evolutiva Molecular versión 7.0 para conjuntos de datos más grandes. *Biología Molecular y Evolución*. 33: 1870-1874.
- Kwarteng, F. G., Cornelius, E., Acquah, K. K., y Asare, E. K. (2018). *Morphological and Molecular Identification of the Fungus Associated with Pink Disease of Cocoa (Theobroma cacao L.) in the Eastern Region of Ghana*. 1(1), 1-8. <https://doi.org/10.9734/IJPR/2018/40660>.

- Martínez, M., Surís, M., y Blanco, E. (2007). Fauna De Chinchas Harinosas (Hemiptera: Pseudococcidae) Asociada a Plantas De Interés: Iii. Cafeto Y Cacao. *Revista de Protección Vegetal*, 22(2), 85–88.
- Meza, J. (2018). *Evaluación de insecticidas orgánicos y químicos para el control del pulgón negro (Aphis fabae S.) en el cultivo de haba (Vicia faba L.) en San Mateo Atenco, EDO. de México* [Universidad autónoma del estado de México]. [http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/95398/EVALUACION DE INSECTICIDAS ORGÁNICOS Y QUÍMICOS PARA EL CONTROL DEL PULGON NEGRO %28Aphis fabae S.%29 EN EL CULTIVO DE HABA %28~1.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/95398/EVALUACION_DE_INSECTICIDAS_ORGÁNICOS_Y_QUÍMICOS_PARA_EL_CONTROL_DEL_PULGON_NEGRO_%28Aphis_fabae_S.%29_EN_EL_CULTIVO_DE_HABA_%28~1.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Mora, W. P. (2008). Enfermedades del cacao. *Curso Internacional de Cacao*, 109. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-12-1648>
- Morán-Rosillo, J. L. (2014). *Identificación y caracterización morfológica de nuevas especies de insectos barrenadores del fruto y tallo del cacao (Theobroma cacao L.), en el valle de Zarumilla* [Universidad Nacional de Tumbes]. [http://repositorio.untumbes.edu.pe/bitstream/handle/UNITUMBES/1868/TESIS - MORAN ROSILLO.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.untumbes.edu.pe/bitstream/handle/UNITUMBES/1868/TESIS_MORAN_ROSILLO.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Moya, A. (2016). Biodiversidad fúngica endófitica y epífita de Citrus sinensis, naranja dulce, de dos localidades de la Región Litoral del Ecuador [Pontificia Universidad Católica de Ecuador]. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 85, Issue 1). [http://201.159.222.35/bitstream/handle/22000/12506/TESIS ALEXANDRA MOYA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://201.159.222.35/bitstream/handle/22000/12506/TESIS_ALEXANDRA_MOYA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Obok, E., Wetten, A., y Allainguillaume, J. (2018). Molecular Evidence of Cacao Swollen Shoot Virus Acquisition and Retention by *Planococcus Citri* (Risso) and *Pseudococcus Longispinus* (Targioni-Tozzetti) and *Pseudococcus Viburni* (Signoret) Mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae). *International Journal of Scientific and Research Publications (IJSRP)*, 8(3). <https://doi.org/10.29322/ijsrp.8.3.2018.p7507>
- Ohene, E. (2014). *Cocoa Production Processing Technology*. <https://www.crcpress.com/Cocoa-Production-and-Processing-Technology/Afoakwa/p/book/9781138033825>
- Panizzi, A. R., y Grazia, J. (2015a). Introduction to true bugs (Heteroptera) of the neotropics. En *True Bugs (Heteroptera) of the Neotropics*. https://doi.org/10.1007/978-94-017-9861-7_1
- Panizzi, A. R., y Grazia, J. (2015b). True bugs (Heteroptera) of the neotropics. En *True*

- Bugs (Heteroptera) of the Neotropics* (Vol. 2008, Número September).
<https://doi.org/10.1007/978-94-017-9861-7>
- Parra, D., Pérez, S., Sosa, D., Rumbos, R., Gutiérrez, B., y Moya, A. (2009). Avances en las investigaciones venezolanas sobre enfermedades del cacao. *Revista de Estudios Transdisciplinarios, 1*. <https://es.wikipedia.org/wiki/Arroz>
- Pereira, O. L., Kasuya, M. C. M., Borges, A. C., y Araújo, E. F. de. (2005). Morphological and molecular characterization of mycorrhizal fungi isolated from neotropical orchids in Brazil. *Canadian Journal of Botany, 83*(1), 54–65.
<https://doi.org/10.1139/b04-151>
- Pests and diseases of cocoa. (2013). Queensland Government.
<https://www.daf.qld.gov.au/business-priorities/agriculture/plants/fruit-vegetable/fruit-vegetable-crops/cocoa/pests-and-diseases-of-cocoa#:~:text=Mirid bugs such as Helopeltis,vector for viruses of cocoa.>
- Phillips-Mora, W., Aime, M. C., y 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, Wilberth, y Cerda, R. (2011). *Enfermedades del cacao en centroamérica*.
<http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/H20-10877.PDF>
- Plantwise. (2022). *Plantwise Knowledge Bank*. Species Page.
<https://www.plantwise.org/knowledgebank/datasheet/20468#HostPlantsSection>
- Ploetz, R. (2016). *Cacao Diseases: A History of Old Enemies and New Encounters* (B. Bailey y L. Meinhardt (eds.)). <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24789-2>
- POWO. (2019). *Plants of the world online*. <http://powo.science.kew.org/>
- Quispe-Suarez, Boris., Guerra-Ambrosio, Bladimir., Sanchez-Choy, Jose., Velazco-Castro, E. (2020). Ocurrencia de parasitismo en huevos de *Edessa aulacosterna* Stal (Hemiptera: Pentatomidae) en camu-camu cultivado en Yarinacocha, Perú. *Rev. PeRu. Entomol, 55*(1), 1–8.
- Rahman, M. Z., Uematsu, S., Coffey, M. D., Uzuhashi, S., Suga, H., y Kageyama, K. (2014). Re-evaluation of Japanese *Phytophthora* isolates based on molecular phylogenetic analyses. *Mycoscience, 55*(4), 314-327.

<https://doi.org/10.1016/j.myc.2013.11.005>

Rehner, S. A., Minnis, A. M., Sung, G. H., Luangsa-ard, J. J., Devotto, L., & Humber, R. A. (2011). Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus *Beauveria*. *Mycologia*, *103*(5), 1055–1073. <https://doi.org/10.3852/10-302>

Rengifo-correa, L. A., y Gonzales, R. (2011). Clave ilustrada para la identificación de las familias de pentatomomorpha (hemiptera-heteroptera) de distribución neotropical. *Boletín Científico Centro de Museos Museo de Historia natural*, *15*(1), 168-187. <http://www.scielo.org.co/pdf/bccm/v15n1/v15n1a13.pdf>

Rizzo, H. F., y Saini, E. D. (1987). Aspectos Morfológicos y Biológicos de *Edessa rufomarginata* (De Geer) (Hemiptera, Pentatomidae). *Revista de la Facultad de Agronomía*, *8*(1), 51-63.

Sanchez H, P.A. y Capriles de Reyes, L. (1979). *Insectos asociados al cultivo del cacao en Venezuela*. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Estacion Experimental Caucahua. <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=AGRINVE.xisymethod=postyformato=2ycantidad=1yexpresion=mfn=000537>

Schneider, S. A., Okusu, A., y Normark, B. B. (2018). Molecular phylogenetics of Aspidiotini armored scale insects (Hemiptera: Diaspididae) reveals rampant paraphyly, curious species radiations, and multiple origins of association with *Melissotarsus* ants (Hymenoptera: Formicidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *129*, 291-303. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.09.003>

Searles, L. (2019). *Exportación de cacao peruano alcanza los US\$ 266 millones principalmente al mercado europeo*. <https://gestion.pe/economia/exportacion-de-cacao-peruano-alcanza-los-us-266-millones-principalmente-al-mercado-europeo-noticia/>

Senanayake, I. C., Crous, P. W., Groenewald, J. Z., Maharachchikumbura, S. S. N., Jeewon, R., Phillips, A. J. L., Bhat, J. D., Perera, R. H., Li, Q. R., Li, W. J., Tangthirasunun, N., Norphanphoun, C., Karunarathna, S. C., Camporesi, E., Manawasighe, I. S., Al-Sadi, A. M., y Hyde, K. D. (2017). Families of Diaporthales based on morphological and phylogenetic evidence. *Studies in Mycology*, *86*, 217–296. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2017.07.003>

SENASA. (2018). *Lineamientos para el monitoreo de plagas de cacao*. <https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2018/05/Lineamientos-cacao->

- Silva, N. I. De, Phillips, A. J. L., Liu, J., Lumyong, S., y Hyde, K. D. (2019). Phylogeny and morphology of Lasiodiplodia species associated with Magnolia forest plants. *Scientific Reports*, May, 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50804-x>
- Simbana, L. L., Caicedo, J. D., y Rivera, L. I. (2015). Pathogenic, morphological and molecular characterization of (*Phytophthora* spp., causal agent of cacao black pod disease in Puerto Rico. *Phytopathology*, 105(3), 0–4.
- Sistema Nacional De Vigilancia. (2019). *Edessa Meditabunda*. <https://www.sinavimo.gob.ar/plaga/edessa-meditabunda>
- Song, X. R., Tang, S. H., Tang, Z. Q., Yang, X. M., Wang, X. W., Wang, X. F., Xu, P. J., y Ren, G. W. (2016). Genetic variability of Myzus persicae nicotianae densovirus based on partial NS and VP gene sequences. *Genetics and Molecular Research*, 15(4). <https://doi.org/10.4238/gmr15049099>
- Song, X. R., Tang, S. H., Tang, Z. Q., Yang, X. M., Wang, X. W., Wang, X. F., Xu, P. J., & Ren, G. W. (2016). Genetic variability of Myzus persicae nicotianae densovirus based on partial NS and VP gene sequences. *Genetics and Molecular Research*, 15(4). <https://doi.org/10.4238/gmr15049099>
- Suárez-Contreras, L. (2016). Molecular identification of *Moniliophthora roreri* isolates from cocoa orchards in Norte de Santander, Colombia. *Acta Agronomica*, 65(1), 51-57. <https://doi.org/10.15446/acag.v65n1.47994>
- Tembe, S., Shouche, Y., y Ghatge, H. V. (2014). DNA barcoding of Pentatomomorpha bugs (Hemiptera: Heteroptera) from Western Ghats of India. *Meta Gene*, 2, 737-745. <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2014.09.006>
- Torma, A., y Galle, R. (2011). Fine scale pattern of true bug assemblages (Heteroptera) across two natural edges. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 57(4), 369–385. http://actazool.nhmus.hu/57/4/azh_57_4_Torma.pdf
- Trabelsi, R., Sellam, H., Gharbi, Y., Krid, S., Cheffi, M., Kammoun, S., Dammak, M., Mseddi, A., Gdoura, R., y Ali Triki, M. (2017). Morphological and molecular characterization of *Fusarium* spp. associated with olive trees dieback in Tunisia. 3 *Biotech*. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0587-3>
- Turpeau, E., Hullé, M., y Chaubet, B. (2014). *Encyclop'Aphid*. République Française. https://www6.inrae.fr/encyclopedie-pucerons_eng/Species/Aphids/Aphis/A.-

fabae/Identification-file

Wickramasuriya, A. M., y Dunwell, J. M. (2018). Cacao biotechnology : current status and future prospects. *Plant Biotechnology Journal*, 16, 4-17.
<https://doi.org/10.1111/pbi.12848>

Zhi-qin, L., Hong-bo, Y., y Cheng-de, L. (2006). The main techniques of insect taxonomy. *Hebei Journal of Forestry and Orchard Research*.
http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotol-HBLY200604011.htm