UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



TESIS

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE TRES AGENTES BIOLOGICOS Y TRES DOSIS DE APLICACIÓN FRENTE A "ESCOBA DE BRUJA" (*Moniliophthora perniciosa)* DE CACAO EN CONDICIONES DE CAMPO EN EL DISTRITO DE ECHARATI – LA CONVENCIÓN – CUSCO

PRESENTADO POR:
Br. ALVARO GALARRETA LAUREL

PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGRÓNOMO

ASESOR:
Dr. WILFREDO CATALAN BAZAN

CUSCO – PERÚ

2026

Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

INFORME DE SIMILITUD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-321-2025-UNSAAC)

El que suscribe, el **Asesor** WILFREDO CATALÁN BAZÁN ..... quien aplica el software de detección de similitud al trabajo de investigación/tesis titulada: EVALUACIÓN DEL EFECTO DE TRES AGENTES BIOLOGICOS Y TRES DOSIS DE APLICACIÓN FRENTE A "ESCOBA DE BRUJA" (Moniliophthora perniciosa) DE CACAO EN CONDICIONES DE CAMPO EN EL DISTRITO DE ECHARATI - LA CONVENCIÓN - CUSCO

Presentado por: ALVARO GALARRETA LAUREL ..... DNI N° 70852410 ;
presentado por: ..... DNI N°: .....
Para optar el título Profesional/Grado Académico de ...INGENIERO AGRÓNOMO.....
.....

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 1 ..... veces, mediante el Software de Similitud, conforme al Art. 6° del ***Reglamento para Uso del Sistema Detección de Similitud en la UNSAAC*** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de .....9.....%.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No sobrepasa el porcentaje aceptado de similitud.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las subsanaciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, conforme al reglamento, quien a su vez eleva el informe al Vicerrectorado de Investigación para que tome las acciones correspondientes; Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de Asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y **adjunto** las primeras páginas del reporte del Sistema de Detección de Similitud.

Cusco, 28 de SETIEMBRE de 2026

Firma

Post firma Wilfredo Catalán Bazán

Nro. de DNI 23849496

ORCID del Asesor 0000-0001-6370-6754

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema de Detección de Similitud: **oid:** 27259:630472578

Escaneado con CamScanner

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE TRES AGENTES BIOLOGICOS Y TRES DOSIS DE APLICACIÓN FRENTE A "ESCOBA DE BRUJA" ...

Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega
trn:oid:::27259:630472578

Fecha de entrega
27 sep 2026, 6:02 a.m. GMT-5

Fecha de descarga
27 sep 2026, 6:30 a.m. GMT-5

Nombre del archivo
EVALUACIÓN DEL EFECTO DE TRES AGENTES BIOLOGICOS Y TRES DOSIS DE APLICACIÓN FRENTE A....pdf

Tamaño del archivo
1.7 MB

95 páginas

20.694 palabras

127.709 caracteres

turnitin Página 1 de 100 - Portada Identificador de la entrega trn:oid:::27259:630472578

Escaneado con CamScanner

9% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Coincidencias menores (menos de 18 palabras)

Fuentes principales

9%	Fuentes de Internet
3%	Publicaciones
6%	Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.° de alertas de integridad para revisión

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Escaneado con CamScanner

DEDICATORIAS

A Dios Todopoderoso, fuente de vida y fuerza inquebrantable, por haberme concedido salud, sabiduría y dirección en los momentos más desafiantes de este trayecto académico y personal.

A mis amados padres, Efraín y Alejandrina, mi hermana Alexia cuyo amor, entrega y presencia constante, en tiempos de alegría y adversidad, han sido el pilar sobre el cual se ha sostenido mi formación y mi perseverancia.

Y a mis docentes de mi hermosa casa de estudios, por enseñarme a no rendirme, por sostener la fe y el coraje necesarios para continuar, aun cuando el camino se tornaba incierto. Esta meta alcanzada también es fruto de mi resiliencia y compromiso.

AGRADECIMIENTO

Expreso mi más sincero y profundo agradecimiento a la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, en especial a la Facultad de Agronomía y Zootecnia, y a la Escuela Profesional de Agronomía, por ser el espacio donde florecieron mis ideales, por nutrirme de conocimientos y por haber contribuido de manera fundamental a mi formación como profesional íntegro.

Mi gratitud especial está dirigida a mis asesores de tesis, el Dr. Wilfredo Catalán Bazán y la Ph.D. Fanny Rosario Márquez Romero, por su guía académica constante, por su apoyo incondicional y por su compromiso generoso durante cada etapa de esta investigación. Su orientación fue esencial para la culminación de este trabajo.

Asimismo, extiendo mi agradecimiento al señor Juvenal, productor de cacao del sector Calcapampa, en el distrito de Echarati, provincia de La Convención, por su apertura, disponibilidad y por haberme permitido realizar las evaluaciones en su parcela. Agradezco profundamente la confianza depositada y la cordialidad con la que me recibió. A todos, gracias por formar parte de este logro.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIAS ii
AGRADECIMIENTO iii
ÍNDICE GENERAL iv
ÍNDICE DE TABLAS ix
ÍNDICE DE FIGURAS x
RESUMEN xii
INTRODUCCIÓN 1
I. PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN 3
1.1. Identificación del problema objeto de investigación. 3
1.2. Planteamiento del problema. 4
1.2.1. Problema general. 4
1.2.2. Problemas específicos. 4
II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN 5
2.1. Objetivos 5
2.1.1. Objetivo general 5
2.1.2. Objetivos específicos 5
2.2. Justificación de la investigación 5
III. HIPÓTESIS 7
3.1. Hipótesis general 7
3.2. Hipótesis específicas 7
IV. MARCO TEÓRICO 8
4.1. Antecedentes de la investigación 8
4.1.1. Internacional 8
4.1.2. Nacional 10
4.1.3. Regional 11
4.2. Bases teóricas 12

4.2.1. Generalidades del cultivo de cacao 12
4.2.1.1. Origen y distribución 12
4.2.1.2. Clasificación taxonómica 12
4.2.1.3. Características botánicas 13
4.2.1.4. Características edafoclimáticas 14
4.2.1.5. Tipos de cacao 15
4.2.1.6. Principales enfermedades del cacao 16
4.2.2. Escoba de bruja (Moniliophthora perniciosa) 17
4.2.2.1. Clasificación taxonómica 17
4.2.2.2. Morfología, ciclo biológico y epidemiología del patógeno 18
4.2.2.2.1. Morfología 18
4.2.2.2.2. Ciclo biológico 19
4.2.2.2.3. Epidemiología 20
4.2.2.3. Síntomas y efectos fisiológicos 21
4.2.2.4. Control biológico y fundamentos del antagonismo 23
4.2.3. Agentes biológicos evaluados 25
4.2.3.1. Trichoderma virens 25
4.2.3.1.1. Clasificación taxonomía 25
4.2.3.1.2. Características morfológicas 25
4.2.3.1.3. Mecanismos de acción biocontroladora 26
4.2.3.1.4. Aplicaciones en el manejo fitosanitario 27
4.2.3.2. Bacillus subtilis 29
4.2.3.2.1. Clasificación taxonomía 29
4.2.3.2.2. Propiedades biológicas 29
4.2.3.2.3. Mecanismos de antagonismo y modo de acción 30
4.2.3.2.4. Eficacia y uso en control biológico 32
4.2.3.3. Melaleuca alternifolia 33

4.2.3.3.1. Clasificación taxonomía 33
4.2.3.3.2. Origen del extracto 33
4.2.3.3.3. Principios activos y mecanismo de acción 34
4.2.3.3.4. Características según ficha técnica 35
4.3. Marco conceptual 36
4.3.1. Inhibición 36
4.3.2. Antagonismo 36
4.3.3. Biocontrol 36
4.3.4. In vitro 37
4.3.5. In vivo 37
4.3.6. ABCPE 37
V. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN 38
5.1. Tipo y enfoque de la investigación 38
5.2. Ubicación espacial 38
5.2.1. Ubicación política 38
5.2.2. Ubicación geográfica 38
5.2.3. Ubicación hidrográfica 38
5.2.4. Ubicación ecológica 38
5.3. Ubicación temporal 38
5.4. Materiales y metodología 39
5.4.1. Materiales 39
5.4.1.1. Material biológico 39
5.4.1.2. Equipos de laboratorio 39
5.4.1.3. Insumos de laboratorio 39
5.4.1.4. Materiales de laboratorio 39
5.4.1.5. Equipos herramientas de campo 40
5.4.2. Metodología 40

5.4.2.1. Fase in vitro 40
5.4.2.1.1. Diseño experimental 40
5.4.2.1.2. Procedimiento experimental 40
5.4.2.2. Fase in vivo 47
5.4.2.2.1. Diseño experimental 47
5.4.2.2.2. Ejecución experimental 48
5.4.2.3. Métodos de evaluación 54
5.4.2.3.1. Efecto de tres agentes con tres dosis (in vitro) 54
5.4.2.3.2. Efecto de tres agentes con tres dosis (in vivo) 54
5.4.2.4. Análisis estadístico 55
5.4.2.4.1. Para la fase in vitro 55
5.4.2.4.2. Para la fase in vivo 56
VI. RESULTADOS Y DISCUSION 57
6.1. Efecto de tres agentes y tres dosis (in vitro) 57
6.1.1. Aislamiento de Moniliophthora perniciosa por descarga de basiodiosporas 57
6.1.2. Evaluación de la efectividad de Trichoderma sp, Bacillus subtilis y Melaleuca alternifolia frente a Moniliohthora perniciosa 58
6.1.2.1. Enfrentamiento de Trichoderma virens y Trichoderma sp frente a Moniliophthora perniciosa. 58
6.1.2.2. Inhibición de Moniliophthora perniciosa con Melaleuca alternifolia y Bacillus subtilis 60
6.2. Efecto de tres agentes y tres dosis (in vivo) 64
6.2.1.1. Interacción de agentes biológicos con las dosis 68
6.2.1.2. Área bajo la curva de progreso de la enfermedad. 69
VII. CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS 74
7.1. Conclusiones 74
7.2. Sugerencias 75
VIII. BIBLIOGRAFÍA 76

IX. ANEXOS 85

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. *Crecimiento micelial de Moniliophthora perniciosa frente a Trichoderma spp. (mm).* 58

Tabla 2. *Análisis de variancia de la inhibición micelial de Moniliophthora perniciosa (mm), al enfrentarse a Trichoderma virens, Trichoderma sp, a las 168 HDS, 25 °C.* 59

Tabla 3. *Prueba Tukey (0.05), de la inhibición micelial de Moniliophthora perniciosa (mm), al enfrentarse a Trichoderma virens, Trichoderma sp a las 168 HDS, 25 °C* 59

Tabla 4. *Crecimiento micelial en la inhibición de Moniliophthora perniciosa (mm), al enfrentarse a Melaleuca alternifolia en dosis (baja, media y alta) y Bacillus suptilis, a las 144 HDS, 25 °C* 61

Tabla 5. *Análisis de varianza del efecto de tres agentes biológicos y tres dosis sobre Moniliophthora perniciosa perniciosa.* 64

Tabla 6. *Prueba Tukey de tratamientos, del efecto de tres agentes biológicos y tres dosis de en el control Moniliophthora perniciosa.* 65

Tabla 7. *Prueba Tukey del factor A y B, del efecto de tres agentes biológicos y tres dosis en el control de Moniliophthora perniciosa.* 67

Tabla 8. *Análisis de variancia del efecto de tres agentes biológicos y tres dosis en el control de Moniliophthora perniciosa.*.....68

Tabla 9. *Área bajo la curva del progreso de la enfermedad por mes, del efecto de tres agentes biológicos y tres dosis frente a Moniliophthora perniciosa.* 69

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. *Ciclo biológico de Moniliophthora perniciosa, agente causal de la escoba de bruja del cacao.* 20

Figura 2. *Basidiocarpos de Moniliophthora perniciosa en cojín floral hojas y frutos.* 22

Figura 3. *Recolección de muestras de Momiliophthora perniciosa.* 42

Figura 4. *Aislamiento de Moniliophthora perniciosa* 45

Figura 5. *Enfrentamiento Trichoderma virens frente a Moniliophthora perniciosa* 45

Figura 6. *Enfrentamiento Bacillus subtilis frente a Moniliophthora perniciosa* 46

Figura 7. *Medio envenenado con Melaleuca alternifolia para Moniliophthora perniciosa* ..46

Figura 8. *Distribución de bloques y parcelas del campo experimental*.....49

Figura 9. *Estructuras microscópicas de Moniliophthora perniciosa* 57

Figura 10. *Grafica donde se observa la comparación de medias entre Trichoderma virens * Moniliohthora perniciosa, Moniliohthora perniciosa* Moniliohthora perniciosa y Trichoderma sp* Moniliohthora perniciosa.* 60

Figura 11. *Gráfico del efecto de la inhibición de Bacillus suptilis y Melaleuca alternifolia y el testigo.* 61

Figura 12. *Gráfico donde se observa la comparación de medias de los tratamientos* 66

Figura 13. *Interacción entre Agentes biológicos y Dosis, donde no existe una interacción.* .68

Figura 14. *Efecto de Trichoderma virens, sobre el progreso de la enfermedad de Moniliophthora perniciosa "escoba de bruja", en ocho meses.* 70

Figura 15. *Efecto de Bacillus suptilis, sobre el progreso de la enfermedad de Moniliophthora perniciosa "escoba de bruja", en ocho meses.*.....71

Figura 16. *Efecto de Melaleuca alternifolia, sobre el progreso de la enfermedad de Moniliophthora perniciosa "escoba de bruja", en ocho meses.* 72

Figura 17. *Curva de variación de temperatura (ºC). Datos proporcionados por Universidad Nacional Intercultural de Quillabamba*.....85

Figura 18. *Curva de variación de lluvia. Datos proporcionados por Universidad Nacional Intercultural de Quillabamba.* 85

Figura 19. *Curva de variación de humedad relativa (%). Datos proporcionados por Universidad Nacional Intercultural de Quillabamba*.....86

RESUMEN

La presente investigación titulada: "*Evaluación del efecto de tres agentes biológicos y tres dosis de aplicación frente a escoba de bruja (Moniliophthora perniciosa) de cacao en el distrito de Echarati – La Convención – Cusco*", tuvo como objetivo evaluar el efecto de tres agentes biológicos (*Trichoderma virens, Bacillus subtilis* y *Melaleuca alternifolia*) en tres dosis frente a escoba de bruja, en condiciones *in vitro* como *in vivo*. La investigación se desarrolló en dos fases: fase *in vitro*, bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA), y una fase *in vivo*, realizada en campo (sector Calcapampa, distrito de Echarati) bajo un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) con arreglo factorial 3 × 4 (tres agentes biológicos × tres dosis y un testigo), con tres repeticiones. Las evaluaciones de campo se efectuaron durante ocho meses, registrándose el número de brotes con hipertrofia y calculándose el (ABCPE). Los resultados en condiciones *in vitro* evidenciaron capacidad antagónica. *Melaleuca alternifolia* y *Bacillus subtilis* lograron inhibir (100 %) el crecimiento micelial del patógeno, mientras que *Trichoderma virens* mostró una inhibición parcial, con 22.33 mm frente a 71.5 mm del testigo. En condiciones de campo, *Trichoderma virens* en dosis alta (15 g/L) presentó el valor promedio de 0.33 brotes hipertrofiados por planta al octavo mes, contrastando con el testigo que alcanzó 10.4 brotes. Asimismo, *Melaleuca alternifolia* en dosis media (5 ml/L) registró el valor más bajo del ABCPE, superando al testigo. Se concluye que existió efecto positivo de los agentes biológicos frente a *Moniliophthora perniciosa* en cacao.

Palabras clave: *Moniliophthora*, *Trichoderma*, *Bacillus*, *Melaleuca*, *In vitro*.

INTRODUCCIÓN

El hongo *Moniliophthora perniciosa* ha sido identificado como el agente etiológico responsable de la enfermedad conocida como *"escoba de bruja"* en el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.), una de las patologías más devastadoras que afecta esta especie (Aime & Phillips-Mora, 2005). Junto con *Moniliophthora roreri* y especies del género *Phytophthora*, este patógeno constituye una de las amenazas más significativas para la sostenibilidad de la industria cacaotera a escala global (Bowers *et al*., 2001; Ploetz, 2016). Su presencia ha sido confirmada en numerosas regiones productoras de cacao en América del Sur, en ciertas zonas de Centroamérica y en algunas islas del Caribe (Bowers *et al*., 2001), permaneciendo aún ausente en países de África occidental y el sudeste asiático, territorios que concentran más del 80 % de la producción mundial del grano (Díaz *et al*., 2020; Meinhardt *et al*., 2008).

Los primeros registros de esta enfermedad se remontan al período comprendido entre 1785 y 1787, cuando el naturalista Alexandre Rodrigues Ferreira describió su sintomatología en la Amazonía brasileña, denominándola en ese entonces como *"lagartão"* (Meinhardt *et al*., 2008). Estas observaciones fueron realizadas en las proximidades de los ríos Branco, Negro y Solimões (Silva, 1987). No obstante, no fue sino hasta el año 1915 que el patógeno fue descrito formalmente bajo el nombre de *Marasmius perniciosus* (Stahel). Posteriormente, fue reclasificado dentro del género Crinipellis como *Crinipellis perniciosa*, designación que duro hasta el 2005, cuando estudios taxonómicos más avanzados permitieron ubicarlo correctamente en el género *Moniliophthora* (Aime & Phillips-Mora, 2005). Durante varios años, la presencia de *M. perniciosa* pasó desapercibida; sin embargo, con la expansión de los cultivos de cacao, su diseminación se aceleró dramáticamente, afectando a diversos países del continente americano y provocando pérdidas millonarias en producción de grano (Bowers *et al*., 2001). Se estima que, a nivel global, esta enfermedad ocasionó pérdidas de aproximadamente 150 000 toneladas en el 2001, cifra que se elevó a 380 000 toneladas para 2012 (Ploetz, 2016). Un caso

emblemático es el de Ecuador, que durante buena parte del siglo XIX fue el mayor productor mundial de cacao. No obstante, la aparición de *M. roreri* en 1916, seguida de *M. perniciosa* en 1917, marcó un punto de inflexión que derivó en la pérdida de dicha supremacía. Similarmente, en Brasil, la irrupción de *M. perniciosa* en el estado de Bahía a finales de la década de 1980 redujo la producción en un 70 %, pasando de 378 000 toneladas en 1990 a menos de 120 000 toneladas en 1999 (Gray, 2001). Impactos similares han sido reportados en países como "Colombia, Perú, Venezuela, Bolivia, Panamá, Guyana, Surinam, Trinidad y Tobago, entre otros" (Bowers *et al*., 2001; Pérez-Vicente, 2018; Ploetz, 2016).

Si bien el conocimiento científico sobre este patógeno ha avanzado significativamente en los últimos años, en países como el Perú aún persisten vacíos de investigación, particularmente en el desarrollo y evaluación de estrategias de manejo biológico. Cabe destacar que Perú ocupa actualmente el octavo lugar entre los principales productores de cacao en el mundo, es el segundo en producción de cacao orgánico y uno de los líderes en exportación de cacao fino y de aroma (MIDAGRI, 2020). Sin embargo, este reconocimiento contrasta con la alta vulnerabilidad del cultivo frente a enfermedades como la *"escoba de bruja"*. En el ámbito local, específicamente en la provincia de La Convención, no se cuenta con estudios experimentales concluyentes que aborden la eficacia de agentes biológicos frente a M. perniciosa. La investigación se ejecutó en una parcela de cacao instalada con los clones CCN-51, Chuncho y VRAE-99, materiales representativos de la zona de estudio, lo que permitió evaluar el comportamiento de los tratamientos bajo condiciones reales de campo. En este contexto, se plantea la siguiente investigación titulada: *"Evaluación del efecto de tres agentes biológicos y tres dosis de aplicación frente a "escoba de bruja" (Moniliophthora perniciosa) de cacao en condiciones de campo en el distrito de Echarati – La Convención – Cusco"*.

El autor

I. PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN

1.1. Identificación del problema objeto de investigación.

El cacao (*Theobroma cacao* L.) constituye uno de los cultivos de mayor importancia económica y social en La Convención, considerado el sustento principal de numerosas familias rurales y símbolo del desarrollo agrícola regional. Sin embargo, su sostenibilidad se encuentra amenazada por la incidencia de enfermedades fúngicas que comprometen los órganos vegetativos y reproductivos de la planta; ello altera su fisiología, reduce el rendimiento y ocasiona severas pérdidas económicas, afectando los sistemas productivos locales. Entre las enfermedades que limitan su productividad destacan *Moniliophthora roreri* (moniliasis), *Rosellinia spp.* (pie negro) y *Moniliophthora perniciosa* (escoba de bruja), siendo esta última la más destructiva por su capacidad de infectar brotes, cojinetes florales y frutos, provocando deformaciones, necrosis y debilitamiento progresivo del árbol. Aunque los productores han incorporado prácticas culturales como la poda sanitaria y la eliminación manual de tejidos afectados, estas medidas resultan insuficientes para contener la propagación de la enfermedad ni reducir su impacto económico.

Y aquí es donde surge el problema objeto a investigar: la persistencia de la escoba de bruja en las plantaciones de cacao del distrito de Echarati evidencia la necesidad urgente de identificar alternativas sostenibles de control que sean eficaces, seguras y adaptadas a las condiciones locales. En este contexto, los agentes biológicos antagonistas, como *Trichoderma virens*, *Bacillus subtilis* y extractos naturales de *Melaleuca alternifolia*, representan opciones prometedoras, para reducir la dependencia de productos químicos. No obstante, aún no se dispone de investigaciones experimentales que evalúen comparativamente su efectividad bajo condiciones *in vitro* e *in vivo*. Esta brecha de conocimiento limita la aplicación de estrategias de manejo integrado de enfermedades y la adopción de tecnologías biológicas sostenibles, indispensables para fortalecer la resiliencia y competitividad del sistema cacaotero local.

1.2. Planteamiento del problema.

1.2.1. Problema general.

¿Cuál será el efecto de tres agentes biológicos y tres dosis de aplicación frente a la escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa)* de cacao (*Theobroma cacao* L.*)* en condiciones *in vitro* e *in vivo* en el distrito de Echarati – La Convencion – Cusco?

1.2.2. Problemas específicos.

- ¿Cuál será el efecto de tres agentes biológicos y tres dosis de aplicación frente a "escoba de bruja" *Moniliophthora perniciosa* en condiciones *"in vitro"* (laboratorio)?
- ¿Cuál será el efecto de tres agentes biológicos y tres dosis de aplicación frente a "escoba de bruja" *Moniliophthora perniciosa* en condiciones *in vivo* (en campo)?

II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

2.1. Objetivos

2.1.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de tres agentes biológicos y tres dosis de aplicación frente a escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa)* del cacao (*Theobroma cacao* L.) en condiciones *in vitro* e *in vivo* en el distrito de Echarati – La Convencion – Cusco.

2.1.2. Objetivos específicos

- Determinar el efecto de tres agentes biológicos y tres dosis de aplicación frente a "escoba de bruja" *Moniliophthora perniciosa* en condiciones *"in vitro"* (laboratorio).
- Determinar el efecto de tres agentes biológicos y tres dosis de aplicación frente a "escoba de bruja" *Moniliophthora perniciosa* en condiciones *in vivo* (en campo).

2.2. Justificación de la investigación

El hongo *Moniliophthora perniciosa*, agente causal de la enfermedad escoba de bruja, representa una limitante para la producción de cacao en La Convención. Su notable capacidad infectiva, observada en diversos pisos altitudinales del distrito de Echarati, genera daños severos en brotes, cojinetes florales y frutos, provocando pérdidas de rendimiento que afectan la sostenibilidad económica de los productores. Esta situación resalta la urgencia de establecer estrategias de control efectivas y sostenibles, capaces de reducir la incidencia de la enfermedad sin comprometer la estabilidad ecológica del sistema productivo. A pesar de los avances logrados en el manejo cultural y químico, la información científica sobre el uso de agentes biológicos en el control de *M. perniciosa* sigue siendo escasa. Este vacío de conocimiento limita la formulación de programas de manejo integrado con enfoque ecológico, razón por la cual resulta indispensable evaluar a agentes biologicos como *Trichoderma virens*, *Bacillus subtilis* y *Melaleuca alternifolia*, aplicados en diferentes concentraciones. En consecuencia, la presente investigación se sustenta en cuatro enfoques fundamentales:

Económico: En la provincia de La Convención, la persistencia de enfermedades fúngicas como la escoba de bruja ha generado una disminución constante en la rentabilidad del cultivo de cacao, obligando a los productores a recurrir a agroquímicos costosos que elevan el gasto operativo. La introducción de agentes biológicos eficientes permitirá disminuir dichos costos, mejorar la productividad y asegurar un manejo más rentable y sostenible del cultivo, fortaleciendo la economía de los pequeños productores.

Social: El control biológico del cacao no solo implica una mejora técnica, sino también un avance social. La adopción de prácticas basadas en microorganismos benéficos promoverá la autonomía tecnológica de las comunidades rurales, mejorando la seguridad laboral y reduciendo la exposición a productos tóxicos. Además, el fortalecimiento del sector cacaotero incidirá positivamente en la cohesión social y el bienestar de las familias agricultoras del distrito de Echarati.

Ambiental: El uso intensivo de productos químicos ha provocado la degradación del suelo, la contaminación de fuentes hídricas y la afectación de organismos benéficos. Frente a ello, el empleo de biocontroladores representa una alternativa ecológicamente segura, que favorece la recuperación del equilibrio biológico, mejora la salud del suelo y contribuye a la conservación de los ecosistemas asociados al cultivo de cacao.

Científico: Desde la perspectiva científica, esta investigación busca generar conocimiento sólido sobre la efectividad de *Trichoderma virens*, *Bacillus subtilis* y *Melaleuca alternifolia* frente a *Moniliophthora perniciosa*, evaluando su comportamiento tanto *in vitro* como *in vivo*. Los resultados obtenidos aportarán evidencia empírica valiosa para la comprensión de los mecanismos de antagonismo y biocontrol, fortaleciendo la base teórica sobre interacciones patógeno–antagonista. Asimismo, estos hallazgos servirán como referencia para futuras investigaciones en fitopatología tropical y en el diseño de programas de manejo integrado adaptados a las condiciones agroecológicas de la Amazonía cusqueña.

III. HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis general

Cuando se aplica los tres agentes biológicos y tres dosis en plantaciones de cacao, la incidencia de *Moniliophthora perniciosa* es menor, mientras que los rendimientos son mayores comparados al testigo.

3.2. Hipótesis específicas

- La aplicación de tres agentes biológicos y tres dosis inhibirán significativamente a "escoba de bruja" (*Moniliophthora perniciosa)* en condiciones *"in vitro"* (laboratorio).
- El efecto de tres agentes biológicos y tres dosis de aplicación inhibirán el crecimiento de "escoba de bruja" (*Moniliophthora perniciosa)* en condiciones *in vivo* (en campo).

IV. MARCO TEÓRICO

4.1. Antecedentes de la investigación

4.1.1. Internacional

Acosta y Villa (2016), en su estudio titulado "*Evaluación de Trichoderma spp. como control biológico en una plantación a pequeña escala de cacao*", realizado Antioquia (Colombia), evaluaron la eficacia de un control biológico de bajo costo basado en el uso de *Trichoderma* spp. frente a la enfermedad causada por *Moniliophthora roreri* en sistemas cacaoteros de pequeña escala. El experimento se condujo en tres lotes que incluyeron un total de diecisiete árboles del clon CCN-51, bajo un diseño comparativo con tres tratamientos: control biológico (lixiviado de cáscaras de mazorcas sanas enriquecido con *Trichoderma* spp. nativo), inductor de resistencia química (fosfito de potasio, K_3PO_3) y control sin aplicación. Aunque no se observaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, el control biológico mostró valores medios superiores respecto al testigo, alcanzando una fracción de mazorca sana del 66 % frente al 43 % del control y un rendimiento promedio de 0,30 kg árbol^{-1}, triplicando el valor obtenido en el tratamiento sin aplicación. Los autores concluyen que *Trichoderma* spp., gracias a su acción antagónica combinada (micoparasitismo, secreción de enzimas líticas y producción de metabolitos antifúngicos), constituye una alternativa técnica y económicamente viable para el manejo de *Moniliophthora roreri* en sistemas de cacao de baja escala productiva.

Villamil *et al* (2018), en su investigación titulada *"Aplicación de antagonistas microbianos para el control biológico de Moniliophthora roreri Cif & Par en Theobroma cacao L. bajo condiciones de campo"*, desarrollada en la finca Corozales, Boyacá (Colombia), evaluaron la eficacia de dos aislamientos autóctonos de *Trichoderma sp.* y uno de *Bacillus sp.* en el control de la moniliasis del cacao. El experimento se estableció bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA) con cuatro tratamientos, cuatro repeticiones y cuatro frutos por

repetición: T1 (*Trichoderma sp.* H5), T2 (*Trichoderma sp.* H20), T3 (*Bacillus sp.* B3) y T4 (testigo sin aplicación). Se midieron la incidencia y severidad de la enfermedad durante seis semanas. El tratamiento T2 (*Trichoderma sp.* H20) presentó la menor severidad externa (reducción del 28 % respecto al testigo) y el menor daño interno (77,5 % frente a 96,5 % del control), además del valor más bajo del Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad (1707 frente a 2435). Los autores concluyen que los aislados nativos de *Trichoderma sp.* y *Bacillus sp.* poseen un alto potencial como agentes biocontroladores de *M. roreri* en condiciones de campo, destacando *Trichoderma sp.* H20 por su mayor eficacia en la reducción de la severidad externa e interna del patógeno.

Guzmán (2024), en su tesis titulada *"Influencia de estrategias de manejo para escoba de bruja (Moniliophthora perniciosa) patógeno foliar en cacao (Theobroma cacao* L.*), Naranjal – Guayas"*, desarrollada en cantón Naranjal, Ecuador, evaluó la efectividad de distintas estrategias de manejo integrado para el control de *Moniliophthora perniciosa* en cacao durante un periodo de seis meses (agosto 2023 – enero 2024). El estudio se realizó bajo un Diseño Cuadrado Latino (DCL) con cinco tratamientos y cinco repeticiones: T1 (aceite ozonizado + poda fitosanitaria), T2 (*Bacillus subtilis* + poda fitosanitaria), T3 (*Paecilomyces lilacinus* + poda fitosanitaria), T4 (solo poda fitosanitaria) y T5 (pyraclostrobin + metiram + poda fitosanitaria). Se evaluaron variables de severidad, incidencia, eficacia y relación costo/beneficio. Los resultados mostraron que el T5 obtuvo la menor severidad (22,20 %) y la menor incidencia (47,8 %), seguido del T3 con la mayor eficacia biológica (72,32 %). En cuanto al rendimiento, el T5 alcanzó el valor más alto con 1769 kg ha^{-1}, siendo además el más rentable, con una relación beneficio/costo de 1,33. La autora concluye que la integración de métodos químicos, biológicos y orgánicos mejora la eficacia del control de la escoba de bruja y optimiza la rentabilidad del cultivo, demostrando la viabilidad técnica y económica del manejo integrado de enfermedades en cacao.

4.1.2. Nacional

Ramos (2022), en su tesis titulada *"Diversidad genética de escoba de bruja (Moniliophthora perniciosa) en el agroecosistema cacao de la provincia de Bagua, región Amazonas"*, desarrollada en los seis distritos de la provincia de Bagua (Copallín, La Peca, El Parco, Bagua, Aramango e Imaza), evaluó la incidencia y diversidad genética del agente causal de la escoba de bruja en sistemas de cacao. El estudio comprendió 44 unidades productivas, de las cuales se obtuvieron 44 aislados de *M. perniciosa* para caracterización morfológica y 50 aislados para análisis molecular. Se efectuó la caracterización macro y micromorfológica en medio PDA, junto con la secuenciación de regiones del ADN ribosomal (ITS, LSU y SSU) y el análisis de once marcadores microsatélites (SSR). Los resultados mostraron incidencia del 100 % en las unidades evaluadas, con mayor severidad en Aramango (97,5 %) y menor en El Parco (10 %). Se identificaron nueve patrones de crecimiento micelial y presencia constante de fíbulas, confirmando la identidad del patógeno. El análisis SSR reveló 19 genotipos multilocus y polimorfismo alélico en seis marcadores, evidenciando diversidad genética entre poblaciones. El autor concluye que *M. perniciosa* presenta estructura genética variable y probable recombinación sexual, lo que resalta la necesidad de estrategias de manejo basadas en la comprensión de su diversidad poblacional.

Perdomo (2014), en su tesis titulada "*Control químico y biológico de las principales enfermedades en el cultivo de cacao (Theobroma cacao* L.*) en el sector Jacintillo, provincia de Leoncio Prado*", desarrollada en la región Huánuco, evaluó la eficacia comparativa de tratamientos químicos y biológicos frente a las enfermedades más comunes del cacao: moniliasis (*Moniliophthora roreri*), escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*) y pudrición parda (*Phytophthora* spp.). El estudio se realizó bajo un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) con cuatro bloques y cinco tratamientos: *Trichoderma harzianum*, óxido cuproso (Akuprox), tebuconazol (Folicur), aplicación secuencial de óxido cuproso y *Trichoderma*

harzianum, y un testigo absoluto. Se efectuaron cuatro aplicaciones mensuales y prácticas culturales uniformes de poda y saneamiento. Los resultados demostraron que todos los tratamientos superaron al testigo en el número de frutos sanos; sin embargo, el tebuconazol (Folicur) presentó la menor incidencia total (2,40 %) y el mayor rendimiento de almendra seca (1250,8 kg ha^{-1}), diferenciándose estadísticamente del control. Asimismo, obtuvo el valor más bajo del Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad (ADCPE) y el mayor índice de retorno económico (160,4 %). El autor concluye que el tebuconazol y *Trichoderma harzianum* son alternativas efectivas y rentables para el manejo integrado de enfermedades en el cultivo de cacao.

4.1.3. Regional

Huaman (2025) en su tesis titulada Eficacia de fungicidas en el control de escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*) en condiciones in vitro y campo, en cacao blanco (Theobroma cacao L.), en Echarate - La Convención – Cusco desarrollada en el distrito de Echarati evaluó el efecto de tres principios activos entre ellos Clorothalonil, Oxicloruro de cobre y la combinación Tebuconazole–Triadimenol para el control de escoba de bruja donde el estudio realizado en condiciones in vitro, utilizando distintas concentraciones. Los hallazgos revelaron que el Oxicloruro de cobre y la mezcla Tebuconazole–Triadimenol lograron una inhibición total (100%) del crecimiento micelial, independientemente de la dosis aplicada.

En las condiciones de campo, cuando se combinó la poda fitosanitaria con la aplicación de Oxicloruro de cobre, se logró reducir significativamente la presencia de brotes hipertrofiados a solo 2.98%, mientras que en el grupo sin tratamiento (testigo) esta incidencia fue de 22.18%. Estos resultados confirman que esta estrategia es altamente efectiva para controlar la enfermedad conocida como escoba de bruja.

4.2. Bases teóricas

4.2.1. Generalidades del cultivo de cacao

4.2.1.1. Origen y distribución

Zarrillo *et al*. (2018) sostienen que el cacao (*Theobroma cacao* L.) tiene su origen en la cuenca alta del Amazonas; región considerada el centro primario de diversificación genética de la especie; un espacio biogeográfico que abarca zonas del oriente ecuatoriano, colombiano y peruano, donde se hallaron evidencias arqueobotánicas con más de 5 300 años de antigüedad. Este hallazgo confirma la existencia temprana de poblaciones silvestres que dieron origen al cacao cultivado actual.

Motamayor *et al*. (2002) explican que, aunque el cacao surgió en Sudamérica, su domesticación se consolidó en Mesoamérica; proceso que involucró la adaptación del cultivo por parte de pueblos precolombinos; quienes aprovecharon sus granos no solo como alimento, sino también como símbolo ritual y medio de intercambio.

Powis *et al*. (2007) afirman que los olmecas fueron los primeros en elaborar bebidas fermentadas de cacao; práctica documentada en el sitio arqueológico El Manatí, Veracruz; mientras que **Cyphers *et al*. (2013)** señalan que su uso persistió durante más de treinta siglos, expandiéndose hacia otras culturas mesoamericanas.

4.2.1.2. Clasificación taxonómica

Cronquist (1986) menciona la clasificación taxonómica del cacao de la siguiente manera:

División : Magnoliophyta

Clase : Magnoliopsida

Subclase : Dilleniidae

Orden : Malvales

Familia : Sterculiaceae

Género : *Theobroma*

Especie : *Theobroma cacao* L.

Nombre vulgar : Cacao

4.2.1.3. Características botánicas

De acuerdo con la descripción realizada por **León (1968),** el cultivo de cacao presenta una serie de rasgos morfoestructurales particulares que permiten su identificación y estudio.

- **Planta de cacao:** Esta especie perenne, de crecimiento arbóreo, alcanza generalmente alturas que oscilan entre los 6 y 8 metros en condiciones óptimas. Desarrolla un sistema radicular de tipo pivotante, conformado por una raíz principal profunda y un conjunto de raíces secundarias que favorecen la absorción de nutrientes.
- **Tallo:** El tallo del cacao se caracteriza por su condición cauliflora, es decir, que las flores y frutos emergen directamente del tronco o de ramas principales, un rasgo distintivo en especies tropicales.
- **Hojas:** Las hojas son de gran tamaño, alternas, colgantes y con una morfología predominantemente elíptica. Presentan un cambio de coloración conforme maduran, y su forma varía desde lanceolada hasta casi ovalada, con venación pinnada y una superficie predominantemente lisa.
- **Flor:** El cacao posee flores hermafroditas, albergando en su estructura ambos órganos sexuales. Su mecanismo de polinización es entomófilo, es decir, depende de insectos para la transferencia del polen.

— **Fruto:** Denominado comúnmente como *mazorca*, este órgano reproductivo presenta características variables que responden tanto a factores genéticos inherentes a la planta como a prácticas de manejo agronómico empleadas durante su desarrollo.

Gráfico 1. *Árbol de cacao (Theobroma cacao L.) en etapa productiva.*



Fuente registro fotográfico propio, Echarati, La Convención, Cusco (2022)

4.2.1.4. Características edafoclimáticas

Benito (1992) señala que el desarrollo vigoroso y saludable del cacao está condicionado por factores edáficos y climáticos específicos:

— **Requerimientos del suelo:** El cacao demanda suelos ricos en materia orgánica, con textura predominantemente arcillosa y presencia de una capa humífera bien estructurada. Para favorecer la fertilidad del suelo, se recomienda el uso de especies leguminosas que permitan la fijación biológica de nitrógeno, contribuyendo al equilibrio nutricional del sistema radicular.

— **Condiciones climáticas:** Este cultivo prospera en climas cálidos y húmedos, con temperaturas medias anuales comprendidas entre 21 y 25 °C. Dicho rango térmico resulta fundamental para estimular la floración y fructificación. Asimismo, se requiere de suelos con buen drenaje y la implementación de cortinas rompeviento, especialmente en zonas expuestas o costeras, con el fin de minimizar el estrés mecánico sobre la planta.

4.2.1.5. Tipos de cacao

García (2000) propone que; existen tres grupos varietales ampliamente reconocidos de cacao, cada uno con particularidades agronómicas, genéticas y organolépticas distintivas:

— **Cacao Forastero:** Este grupo representa la base genética del 95 % de la producción mundial de cacao, debido a su notable resistencia a enfermedades y menor requerimiento de cuidados. Se caracteriza por ofrecer un sabor estable, lo que lo convierte en el preferido para la industria chocolatera convencional. Dentro de los materiales más difundidos se encuentra el clon CCN-51 (Colección Castro Naranjal 51), desarrollado en Ecuador, el cual destaca por su elevada productividad, amplia adaptación a diferentes condiciones ambientales y relativa tolerancia a enfermedades. Este clon puede alcanzar rendimientos entre 1 300 y 1 800 kg de cacao seco por hectárea, superando a muchos otros materiales comerciales, razón por la cual ha logrado una amplia aceptación y expansión en los países productores de cacao de América Latina.

— **Cacao Criollo:** También denominado cacao fino o aromático, esta variedad es apreciada por la complejidad y riqueza de sus compuestos aromáticos y de sabor. No obstante, su cultivo requiere condiciones más controladas, ya que presenta una menor resistencia a enfermedades, lo cual limita su difusión y productividad. El Chuncho y el VRAE-99 son dos ejemplos destacados de este tipo de cacao de fino aroma nativo del Perú. El Chuncho es originario de La Convención, Cusco, y fue domesticado por las

comunidades indígenas Matsigenka, destacándose por su aroma intenso, notas cítricas, frutas secas y alto contenido de manteca. El VRAE-99 (también conocido como "Ganso") es originario del distrito de Pichari, VRAEM, Cusco, y es valorado por su sabor suave, notas afrutadas, baja acidez y resistencia natural a la moniliasis.

— **Cacao Trinitario:** Resultado del cruzamiento entre las variedades Forastero y Criollo, el cacao Trinitario fue desarrollado con el objetivo de combinar la resistencia genética del primero con las cualidades sensoriales del segundo. De este modo, se ha convertido en una alternativa valiosa para mercados especializados que demandan calidad sensorial sin sacrificar la viabilidad agronómica.

4.2.1.6. Principales enfermedades del cacao

Purdy *et al.* (1998) indican que el cacao (*Theobroma cacao* L.) es un cultivo altamente vulnerable a diversas enfermedades fitopatógenas; muchas de ellas causadas por hongos, bacterias, nemátodos y virus; cuyo impacto varía de acuerdo con las condiciones climáticas, la altitud y el manejo agronómico del sistema productivo. Estas patologías, cuando no se controlan oportunamente, pueden reducir drásticamente los rendimientos y comprometer la calidad de los granos destinados a la industria chocolatera.

Evans *et al.* (2013) sostienen que una de las enfermedades más extendidas y destructivas es la moniliasis, causada por *Moniliophthora roreri*; patógeno que ataca los frutos en cualquier fase de desarrollo. Los síntomas iniciales se manifiestan como manchas aceitosas, deformaciones y abultamientos; posteriormente, la superficie del fruto adquiere una coloración marrón y desarrolla una capa pulverulenta blanca compuesta por conidias. En estados avanzados, el hongo invade las semillas, provocando necrosis interna, pérdida de peso y momificación del fruto.

CABI (2016) refiere que otra enfermedad de gran importancia es la pudrición parda de la mazorca, originada por *Phytophthora palmivora*; la cual genera manchas oscuras y bien

definidas que se expanden rápidamente hasta cubrir toda la superficie de la mazorca. Bajo condiciones de alta humedad, se observa la presencia de un micelio blanco y ralo sobre el fruto, señal inequívoca de la colonización del patógeno. Esta enfermedad ocasiona pérdidas severas en cosechas y representa un riesgo latente en zonas tropicales de alta precipitación.

Porras y Sánchez (1991) explican que la escoba de bruja, producida por *Moniliophthora perniciosa*, es una de las patologías más devastadoras del cacao. Este hongo invade los brotes, las flores y los frutos, alterando su equilibrio hormonal y provocando deformaciones características. En infecciones severas, puede causar hasta el noventa por ciento de pérdida de la producción anual. Dada su complejidad biológica y su comportamiento epidemiológico, su análisis detallado se abordará en un apartado independiente dentro de este capítulo.

Purdy *et al.* (1998) mencionan que la pudrición negra de la raíz, provocada por *Rosellinia* sp., afecta el cambium y los tejidos radiculares, generando descomposición, clorosis foliar y marchitamiento progresivo. Este hongo, propio de suelos con drenaje deficiente, se dispersa mediante el agua superficial o por contacto entre raíces, ocasionando focos de infección que pueden expandirse rápidamente dentro de la plantación.

4.2.2. Escoba de bruja (Moniliophthora perniciosa)

4.2.2.1. Clasificación taxonómica

El **Global Biodiversity Information Facility (GBIF, 2025)** es una institución científica internacional que recopila y valida información biológica sobre especies de todo el mundo, integrando datos taxonómicos provenientes de herbarios, colecciones fúngicas y secuencias moleculares, con el fin de asegurar la correcta identificación y filiación filogenética de los organismos. De acuerdo con esta base de datos, la posición sistemática de *Moniliophthora perniciosa* se organiza de la siguiente manera:

Reino : Fungi

Filo : Basidiomycota

Clase : Agaricomycetes

Orden : Agaricales

Familia Marasmiaceae

Género : *Moniliophthora* H.C. Evans *et al*.

Especie :*Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora

GBIF (2025) describe que; el basiónimo de esta especie corresponde a *Marasmius perniciosus* Stahel (1920), posteriormente reclasificada como *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer y finalmente ubicada en el género *Moniliophthora* por Aime y Phillips-Mora (2006), a partir de estudios filogenéticos basados en secuencias del ADN ribosomal. Esta especie comparte estrecha relación con *Moniliophthora roreri*, aunque se diferencia por su carácter hemibiotrófico y su capacidad de colonizar tejidos meristemáticos del cacao, originando la enfermedad conocida como "escoba de bruja".

4.2.2.2. Morfología, ciclo biológico y epidemiología del patógeno

4.2.2.2.1. Morfología

Evans y Barreto (1996) explican que *Moniliophthora perniciosa* es un hongo basidiomiceto perteneciente a la familia Marasmiaceae, caracterizado por producir micelio hialino, septado y ramificado, con la presencia de fíbulas o clamp connections, típicas de los basidiomicetos superiores. Los basidiocarpos, estructuras reproductivas visibles, adoptan una morfología semejante a pequeños paraguas de color pardo claro, con el himenio ubicado en la superficie inferior del sombrero, donde se desarrollan las basidiosporas.

SENASICA (2022) señala que las basidiosporas son hialinas, elípticas, unicelulares y de paredes delgadas, con dimensiones que oscilan entre 6 y 9 µm de largo por 3 a 5 µm de ancho, las cuales germinan rápidamente en condiciones de alta humedad relativa (superior al

95 %) y temperaturas entre 22 y 28 °C, parámetros que coinciden con las condiciones predominantes en los cacaotales amazónicos. Estas estructuras constituyen la principal fuente de inóculo primario responsable del inicio de la infección.

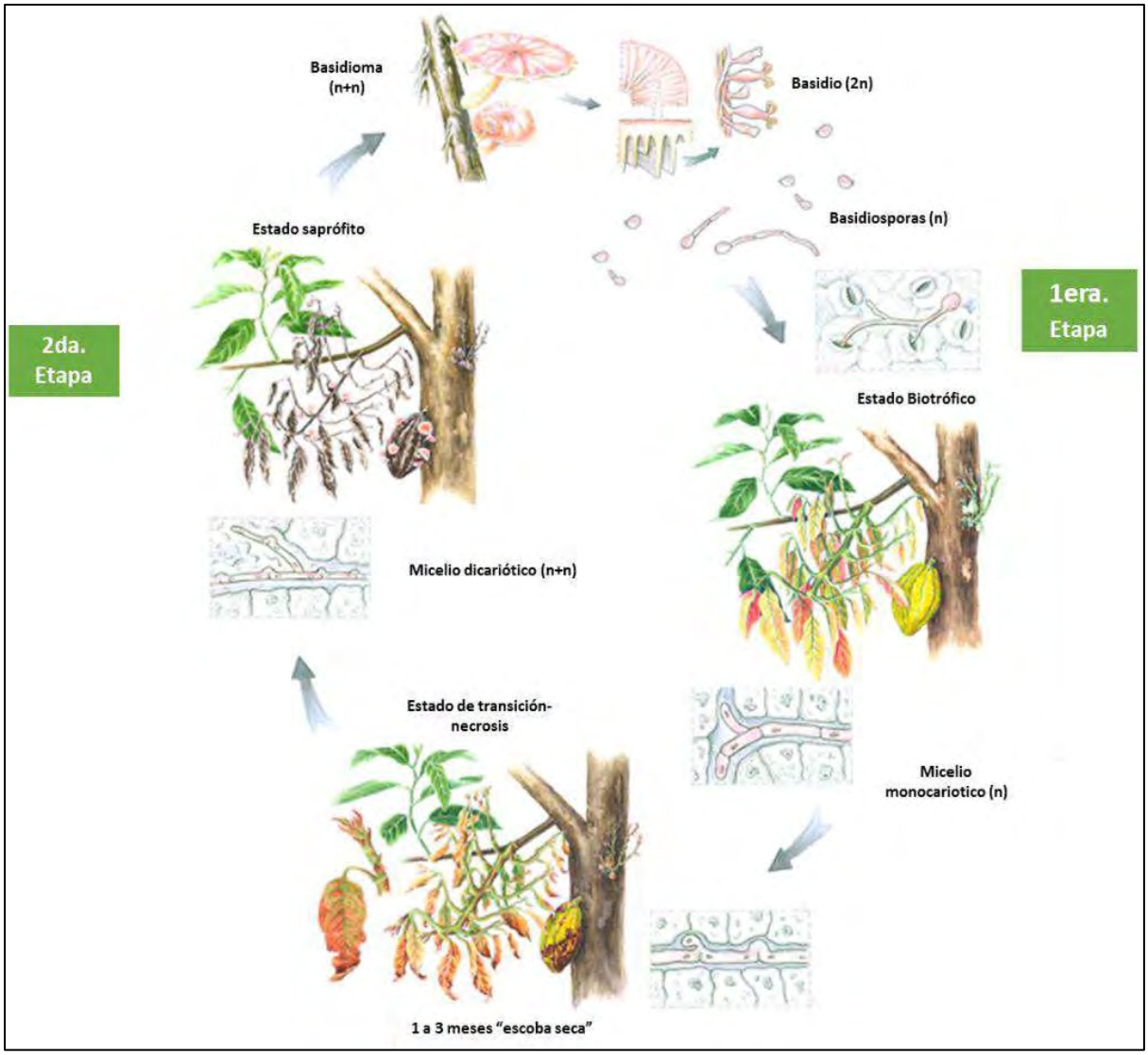
4.2.2.2.2. Ciclo biológico

Parra *et al*. (2008) sostienen que el ciclo de *Moniliophthora perniciosa* comprende dos fases fisiológicas claramente diferenciadas: la fase biotrófica y la fase necrotrófica o saprofítica. Durante la primera, el hongo penetra en los tejidos jóvenes del hospedero (brotes, cojines florales o frutos tiernos) mediante la germinación de basidiosporas, colonizando intercelularmente los espacios corticales sin causar necrosis inmediata. En esta etapa, actúa como un parásito obligado, induciendo una marcada alteración hormonal en el tejido huésped que genera hipertrofia e hiperplasia celular, lo que se manifiesta externamente como brotes anormalmente hinchados o deformados.

Según **CAB International (2018),** tras un periodo de incubación de 3 a 14 semanas, los tejidos infectados pierden viabilidad y el hongo cambia a su fase necrotrófica. En esta segunda etapa, las hifas invaden las células muertas, originando los basidiocarpos sobre los tejidos necrosados, principalmente en brotes secos o momificados, desde donde se liberan nuevamente las basidiosporas, que son dispersadas por el viento, las salpicaduras de lluvia y el contacto directo entre plantas. Este proceso perpetúa el ciclo infeccioso, permitiendo que la enfermedad se mantenga activa durante todo el año en condiciones favorables.

Figura 2.

Ciclo biológico de Moniliophthora perniciosa, agente causal de la escoba de bruja del cacao.



Fuente: Tomado de SENASICA (2022) Carneiro, 2015

4.2.2.2.3. Epidemiología

SENASICA (2022) afirma que la epidemiología de la escoba de bruja está estrechamente condicionada por la interacción entre el agente causal, el hospedero y las variables ambientales, siendo las zonas de alta humedad y baja luminosidad las más propicias para la infección. La enfermedad se propaga con mayor intensidad en regiones donde las

precipitaciones superan los 1 500 mm anuales, con temperaturas medias de 24–27 °C, lo que facilita tanto la germinación de basidiosporas como la prolongación de la fase biotrófica.

Evans y Barreto (1996) detallan que la diseminación se da principalmente por corrientes de aire y lluvia, y que los focos de infección se concentran en la copa de los árboles, donde los brotes secos permanecen adheridos, actuando como reservorios del inóculo. Además, las escobas vegetativas caídas al suelo no contribuyen significativamente a la epidemia, a diferencia de las que permanecen en el dosel y continúan liberando esporas.

CAB International (2018) enfatiza que la enfermedad puede causar pérdidas de hasta el 90 % de la producción en cultivos sin manejo fitosanitario, afectando no solo la productividad sino también la fisiología del árbol, al reducir la capacidad fotosintética y alterar la dinámica de crecimiento vegetativo y reproductivo.

4.2.2.3. Síntomas y efectos fisiológicos

Evans y Barreto (1996) explican que los síntomas de la escoba de bruja del cacao se manifiestan en casi todos los órganos de la planta (brotes, cojines florales, flores y frutos), originando una amplia gama de alteraciones morfo-fisiológicas. El primer signo visible en los brotes jóvenes consiste en un engrosamiento anormal de los tejidos, consecuencia del crecimiento desorganizado de las células corticales y medulares. Este fenómeno, conocido como hipertrofia e hiperplasia, se debe a la alteración de los balances hormonales endógenos, particularmente del ácido indolacético (AIA) y las citoquininas, lo que rompe la dominancia apical e induce la emisión de numerosas yemas laterales que confieren al brote su característico aspecto de “escoba”.

SENASICA (2022) señala que estas escobas pueden clasificarse en vegetativas y reproductivas, dependiendo del tejido afectado. Las escobas vegetativas surgen a partir de brotes jóvenes, que muestran elongación reducida, entrenudos cortos y hojas cloróticas, delgadas y deformadas. En contraste, las escobas reproductivas aparecen en los cojines florales,

donde las flores infectadas se hipertrofian, pierden su capacidad de fecundación y dan lugar a estructuras aberrantes con aspecto de brotes secos. A medida que progresa la enfermedad, el tejido hipertrofiado pierde turgencia, se necrosa y termina cubierto por un micelio blanquecino que evoluciona hacia un color pardo oscuro.

CAB International (2018) sostiene que los efectos fisiológicos de M. perniciosa trascienden los síntomas visibles, pues la infección interrumpe los procesos de translocación de asimilados y reduce la capacidad fotosintética de las hojas. La pérdida de dominancia apical, combinada con el consumo de carbohidratos por el micelio biotrófico, debilita la estructura del árbol y disminuye su rendimiento productivo hasta en un 90 %, especialmente en sistemas de sombra densa y alta humedad relativa.

SENASICA (2022) concluye que, en ausencia de control, las escobas secas permanecen adheridas por largos periodos, y sobre ellas se forman los basidiocarpos, desde los cuales se liberan millones de basidiosporas que reinician el ciclo de infección. Este comportamiento convierte a los tejidos necróticos en la principal fuente de inóculo secundario, asegurando la persistencia del patógeno en el agroecosistema durante todo el año.

Figura 3.

Basidiocarpos de Moniliophthora perniciosa en cojín floral hojas y frutos.



Fuente: Tomado de SENASICA (2022) en ficha técnica de *Moniliophthora perniciosa*

4.2.2.4. Control biológico y fundamentos del antagonismo

Baker y Cook (1974) sostienen que el control biológico constituye una de las estrategias más sostenibles dentro del manejo integrado de enfermedades vegetales, al basarse en el uso de microorganismos benéficos capaces de reducir la incidencia de patógenos mediante mecanismos ecológicos naturales, sin generar impactos negativos en el ambiente ni resistencia en las poblaciones del agente causal. En el caso de la escoba de bruja del cacao (Moniliophthora perniciosa), el control biológico se ha posicionado como una alternativa viable frente a los fungicidas sintéticos, tradicionalmente empleados en las zonas productoras.

SENASICA (2022) explica que, entre los agentes más prometedores, destacan los hongos del género *Trichoderma* y las bacterias del género *Bacillus*, ampliamente estudiados por su capacidad de competir, parasitar e inhibir el crecimiento de M. perniciosa a través de distintos mecanismos fisiológicos. *Trichoderma virens*, por ejemplo, ejerce su efecto por micoparasitismo, enrollando sus hifas alrededor del micelio del patógeno y liberando enzimas hidrolíticas (como quitinasas, glucanasas y proteasas) que degradan la pared celular (Harman *et al*., 2004). *Bacillus subtilis*, en cambio, actúa mediante antibiosis y competencia por nutrientes, produciendo compuestos antimicóticos como iturinas y surfactinas, además de inducir resistencia sistémica en el hospedero (Howell, 2003).

CAB International (2018) resalta que el uso de extractos vegetales, como los aceites esenciales de *Melaleuca alternifolia*, complementa la acción microbiana del biocontrol. Sus metabolitos terpénicos, principalmente el terpinen-4-ol, alteran la integridad de la membrana fúngica e inhiben la síntesis de ergosterol, lo que refuerza el control de M. perniciosa en campo.

Bowers *et al.* (2001) afirman que, en los últimos veinte años, se han desarrollado investigaciones adicionales que condujeron al aislamiento de nuevas especies de *Trichoderma* con capacidad micoparasítica más especializada. Entre ellas destaca *Trichoderma stromaticum*, parásito natural del micelio y basidiocarpos de M. perniciosa. En Brasil, se han formulado

productos comerciales basados en *Trichoderma stromaticum* para el manejo de la enfermedad; sin embargo, los resultados han sido variables e inconsistentes, debido a la complejidad de las interacciones entre el microclima del cacaotal y la supervivencia del hongo antagonista. Actualmente, diversas instituciones de investigación de Estados Unidos, Centro y Sudamérica continúan optimizando la eficiencia y estabilidad biológica de *Trichoderma stromaticum*, aunque hasta la fecha no se ha identificado un antagonista que actúe con agresividad suficiente en condiciones de campo tropical.

SENASICA (2022) enfatiza que el éxito del control biológico depende no solo de la eficacia de los agentes empleados, sino también de su integración dentro de un manejo agroecológico sostenible, que considere la dinámica del inóculo, las condiciones climáticas locales y la compatibilidad de los microorganismos con las prácticas agrícolas del productor. De esta manera, el control biológico representa un pilar fundamental en la búsqueda de sistemas cacaoteros más resilientes y ambientalmente equilibrados.

4.2.3. Agentes biológicos evaluados

4.2.3.1. Trichoderma virens

4.2.3.1.1. Clasificación taxonomía

El **Global Biodiversity Information Facility GBIF (2025)**, organismo internacional dedicado a la recopilación y sistematización de datos biológicos, reconoce a *Trichoderma virens* (J.H. Mill., Giddens & A.A. Foster) Arx como una especie fúngica perteneciente al filo Ascomycota, dentro de la clase Sordariomycetes, orden Hypocreales y familia Hypocreaceae. En consecuencia, su posición sistemática se organiza de la siguiente manera:

Reino : Fungi

Filo: : Ascomycota

Clase : Sordariomycetes

Orden : Hypocreales

Familia : Hypocreaceae

Género : *Trichoderma Persoon* ex Gray, 1801

Especie : *Trichoderma virens* (J.H. Mill., Giddens & A.A. Foster) Arx

GBIF (2025) señala que; la especie *Trichoderma virens* es reconocida por su alta capacidad de adaptación ecológica y su amplio rango de distribución geográfica, registrando más de mil ocurrencias biológicas a nivel global, con presencia documentada en regiones tropicales y subtropicales de América, Asia, África y Oceanía, donde se asocia frecuentemente con suelos agrícolas y rizósferas de múltiples especies vegetales hospederas.

4.2.3.1.2. Características morfológicas

Gómez (2014) describe que *Trichoderma virens* es un hongo filamentoso de crecimiento vigoroso, caracterizado por la formación de hifas septadas, finas y altamente ramificadas, que colonizan tanto la superficie del suelo como la rizósfera de las plantas. Este microorganismo desarrolla conidióforos erectos y ramificados, en cuyos ápices se agrupan

conidios unicelulares de color verde y textura lisa, responsables de su apariencia aterciopelada en medios de cultivo. Asimismo, forma clamidosporas de pared gruesa, estructuras especializadas que garantizan su persistencia bajo condiciones ambientales adversas, permitiéndole sobrevivir largos periodos de latencia en ausencia del hospedero.

Gómez (2014) explica que el micelio de *Trichoderma virens* ejerce una función micoparasítica activa, ya que sus hifas envuelven y penetran las de hongos fitopatógenos, como *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*, provocando la desintegración de sus paredes celulares mediante enzimas hidrolíticas, entre ellas quitinasas y glucanasas. Este proceso ocasiona la desorganización del citoplasma y la muerte del patógeno, reduciendo su capacidad de infección y diseminación.

Gómez (2014) destaca que T. virens se desarrolla óptimamente entre 10 y 30 °C, con un rango de pH de 4 a 7, lo que explica su amplia adaptabilidad ecológica y eficacia en diferentes condiciones agroclimáticas. En cultivo, su coloración verde intensa y su crecimiento rápido son indicadores de pureza y viabilidad. Estas características morfológicas y fisiológicas sustentan su uso como agente biocontrolador eficaz, capaz de integrarse en estrategias de manejo sostenible de enfermedades fúngicas en cultivos como el cacao, el café y las hortalizas.

4.2.3.1.3. Mecanismos de acción biocontroladora

Gómez (2014) explica que *Trichoderma virens* ejerce su acción biocontroladora mediante una combinación de mecanismos directos e indirectos, que le permiten inhibir el desarrollo de hongos fitopatógenos y, al mismo tiempo, estimular el crecimiento de las plantas hospedantes. Entre los mecanismos directos, destaca la competencia por espacio y nutrientes, donde el hongo coloniza rápidamente la rizósfera y los tejidos superficiales de la planta, impidiendo el establecimiento de patógenos. Asimismo, presenta micoparasitismo, un proceso en el cual las hifas de *Trichoderma virens* reconocen, enrollan y penetran las hifas del patógeno,

liberando enzimas hidrolíticas como quitinasas, glucanasas y proteasas que degradan la pared celular del microorganismo hospedero, provocando su lisis y muerte.

Infante *et al*. (2009) sostienen que este hongo también produce una amplia gama de metabolitos secundarios antifúngicos, entre ellos antibióticos naturales, compuestos volátiles y toxinas de bajo peso molecular que alteran la permeabilidad de la membrana celular de los patógenos. Estos metabolitos, junto con las enzimas extracelulares, confieren a Trichoderma virens una elevada capacidad de supresión frente a especies como *Fusarium oxysporum, Rhizoctonia solani, Sclerotium rolfsii* y *Moniliophthora perniciosa*.

Gómez (2014) enfatiza que, de manera indirecta, *Trichoderma virens* actúa como promotor del crecimiento vegetal al inducir la resistencia sistémica del hospedero (ISR), estimulando la producción de fitoalexinas y compuestos fenólicos defensivos. Además, mejora la absorción de nutrientes minerales y la tolerancia al estrés hídrico, térmico o químico. Estos efectos fisiológicos explican su éxito en programas de manejo integrado de enfermedades (MIPE), donde el uso de *Trichoderma virens* representa una alternativa biotecnológica sostenible frente a los fungicidas sintéticos tradicionales.

4.2.3.1.4. Aplicaciones en el manejo fitosanitario

Gómez Ramírez (2014) señala que *Trichoderma virens* constituye uno de los agentes biocontroladores más empleados en programas de Manejo Integrado de Enfermedades (MIPE), debido a su capacidad para colonizar rápidamente la rizósfera y competir eficazmente con hongos fitopatógenos del suelo. Su aplicación ha demostrado resultados consistentes en la reducción de enfermedades ocasionadas por *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium oxysporum y Moniliophthora perniciosa*, siendo utilizado tanto en cultivos perennes como cacao y café, como en cultivos hortícolas de alta demanda comercial. En este contexto, la aplicación de *Trichoderma virens* contribuye a mantener la sanidad del suelo, a restaurar el equilibrio microbiano y a reducir la dependencia del uso de fungicidas sintéticos.

Infante *et al*. (2009) explican que *Trichoderma virens* puede aplicarse en diversas formas, incluyendo el tratamiento de semillas, la inmersión de raíces, la aspersión foliar o la incorporación directa al suelo mediante mezclas con materia orgánica, compost o sustratos de vivero. Estas modalidades favorecen la colonización temprana de las raíces y el establecimiento de una barrera biológica protectora frente a los patógenos del suelo. Además, su acción se ve potenciada cuando se combina con prácticas agronómicas adecuadas, como la fertilización equilibrada y el manejo racional del riego, factores que mejoran la persistencia del biocontrolador en el campo.

Gómez Ramírez (2014) añade que el uso de *Trichoderma virens* no solo ejerce un control biológico eficaz, sino que también estimula el crecimiento vegetal mediante la producción de reguladores naturales como ácido indolacético y compuestos volátiles que mejoran la absorción de nutrientes y la tolerancia al estrés ambiental. En consecuencia, este hongo se consolida como una herramienta estratégica en el manejo sostenible del cultivo de cacao, al contribuir simultáneamente a la sanidad del ecosistema agrícola y al fortalecimiento fisiológico de las plantas.

4.2.3.2. Bacillus subtilis

4.2.3.2.1. Clasificación taxonomía

El **Global Biodiversity Information Facility (GBIF, 2024)**, plataforma científica internacional que centraliza datos taxonómicos y de biodiversidad biológica, reconoce a *Bacillus subtilis* G como una especie aceptada dentro del dominio bacteriano. Esta clasificación se encuentra organizada de la siguiente manera:

Reino : Bacteria

Filo : Firmicutes

Clase : Bacilli

Orden : Bacillales

Familia : Bacillaceae

Género : Bacillus Cohn, 1872

Especie : *Bacillus subtilis* G

Según **GBIF (2024**), *Bacillus subtilis* es una bacteria Gram positiva, formadora de endosporas, considerada una de las especies modelo más estudiadas dentro del género Bacillus por su amplia distribución, alta estabilidad genética y versatilidad ecológica. Su capacidad de formar estructuras de resistencia le permite sobrevivir en condiciones ambientales extremas, manteniendo su viabilidad en diversos ecosistemas terrestres y agrícolas.

4.2.3.2.2. Propiedades biológicas

González *et al.* (2022) explican que *Bacillus subtilis* es una bacteria Gram positiva, de morfología bacilar, móvil por flagelos perítricos, catalasa positiva y capaz de desarrollarse tanto en condiciones aerobias como anaerobias facultativas. Este microorganismo se caracteriza por su extraordinaria adaptabilidad a una amplia gama de ambientes, prosperando en un rango de pH entre 4.9 y 9.3, y temperaturas que oscilan de 10 a 48 °C, con un óptimo fisiológico cercano a los 30 °C. Su rasgo más distintivo es la formación de endosporas,

estructuras altamente resistentes que le permiten sobrevivir a condiciones extremas de desecación, radiación y estrés químico, garantizando su persistencia y viabilidad a largo plazo en el suelo agrícola.

González *et al.* (2022) sostienen que *Bacillus subtilis* actúa como una Rizobacteria Promotora del Crecimiento Vegetal (PGPR), debido a sus mecanismos directos e indirectos de beneficio sobre las plantas. En el primer caso, estimula la germinación y el desarrollo radicular mediante la producción de fitohormonas como el ácido indolacético y las citoquininas; además, contribuye a la fijación biológica de nitrógeno y a la solubilización de fosfatos y micronutrientes del suelo, lo que mejora la nutrición vegetal y reduce la dependencia de fertilizantes químicos. Entre sus mecanismos indirectos, resalta su papel en la producción de metabolitos secundarios antimicrobianos, tales como lipopéptidos (iturinas, fengicinas y surfactinas), compuestos volátiles y sideróforos, que inhiben el crecimiento de hongos fitopatógenos como *Fusarium oxysporum, Rhizoctonia solani, Botrytis cinerea* y *Phytophthora infestans.*

González *et al.* (2022) afirman que la presencia de B. subtilis en la rizósfera no solo mejora la absorción de nutrientes, sino que también induce resistencia sistémica en las plantas (ISR), fortaleciendo sus defensas frente a estreses bióticos y abióticos. Por su doble acción (promotora y protectora), esta especie representa un componente esencial en los programas modernos de manejo biotecnológico y sostenible de cultivos, consolidándose como una alternativa ecológica al uso de pesticidas químicos.

4.2.3.2.3. Mecanismos de antagonismo y modo de acción

González *et al.* (2022) explican que *Bacillus subtilis* ejerce su acción biocontroladora mediante un conjunto de mecanismos sinérgicos que actúan sobre los patógenos del suelo y la superficie foliar. Entre los principales destacan la competencia por espacio y nutrientes, la secreción de metabolitos antimicrobianos, la producción de enzimas líticas y la inducción de

resistencia sistémica en las plantas (ISR). Estos mecanismos se activan de manera coordinada, permitiendo al microorganismo colonizar con eficacia la rizósfera y establecer una barrera microbiana que impide la germinación de esporas y el crecimiento del micelio de hongos fitopatógenos.

González *et al*. (2022) sostienen que uno de los mecanismos más relevantes corresponde a la síntesis de lipopéptidos bioactivos, entre ellos la iturina, la fengicina y la surfactina, compuestos de bajo peso molecular que alteran la integridad estructural de la membrana plasmática de los hongos, provocando la pérdida del contenido citoplasmático y la muerte celular. A ello se suma la producción de sideróforos, moléculas quelantes con alta afinidad por el hierro, que limitan la disponibilidad de este elemento esencial para el crecimiento de los patógenos. Paralelamente, *Bacillus subtilis* genera compuestos orgánicos volátiles (VOCs) con efecto antifúngico y antibacteriano, capaces de inhibir el desarrollo de patógenos incluso a distancia, dentro del microambiente radicular.

González *et al*. (2022) añaden que *Bacillus subtilis* participa activamente en la estimulación del sistema de defensa vegetal, induciendo respuestas fisiológicas que fortalecen la resistencia natural de la planta. Este proceso, conocido como resistencia sistémica inducida (ISR), implica la activación de genes relacionados con la síntesis de fitoalexinas, proteínas PR y compuestos fenólicos de defensa. De esta manera, el microorganismo no solo actúa como un antagonista directo, sino también como un agente elicitor que prepara a la planta para responder de forma más eficiente ante futuros ataques de patógenos.

González *et al*. (2022) concluyen que los mecanismos de antagonismo de *Bacillus subtilis* integran una estrategia de biocontrol multifuncional, que combina la inhibición química, la competencia ecológica y la activación de defensas naturales, lo que explica su eficacia y estabilidad como bioinoculante en sistemas agrícolas sostenibles.

4.2.3.2.4. Eficacia y uso en control biológico

González *et al.* (2022) señalan que *Bacillus subtilis* despliega su acción biocontroladora mediante una combinación de mecanismos complementarios que garantizan una protección integral frente a patógenos del suelo y tejidos vegetales. Entre estos destacan la competencia por espacio y nutrientes, la síntesis de metabolitos antimicrobianos, la producción de enzimas hidrolíticas (como quitinasas, glucanasas y proteasas) y la formación de biopelículas protectoras que impiden la colonización de microorganismos patógenos. Los autores explican que este microorganismo produce lipopéptidos como iturina, fengicina y surfactina, compuestos capaces de alterar la membrana plasmática de hongos fitopatógenos, provocando su desorganización estructural y, finalmente, la lisis celular.

González *et al.* (2022) afirman que *Bacillus subtilis* actúa como un inductor de resistencia sistémica (ISR), estimulando en la planta la síntesis de fitoalexinas y proteínas relacionadas con la defensa, lo que refuerza la capacidad de respuesta ante estreses bióticos. Además, el microorganismo genera sideróforos que limitan la disponibilidad de hierro en la rizósfera y produce compuestos orgánicos volátiles (VOCs) con acción antifúngica, permitiendo un control indirecto de patógenos a distancia. Gracias a esta interacción ecológica multifuncional, *Bacillus subtilis* se consolida como un bioagente eficaz en sistemas agrícolas sostenibles, combinando mecanismos químicos, fisiológicos y ecológicos para mantener la sanidad del cultivo.

4.2.3.3. Melaleuca alternifolia

4.2.3.3.1. Clasificación taxonomía

El **GBIF (2025)** señala que *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel es una especie vegetal perteneciente al reino Plantae, ampliamente reconocida por su valor medicinal y fitosanitario. Su clasificación taxonómica, aceptada en el Catalogue of Life, se estructura de la siguiente manera:

Reino : Plantae

Filo : Tracheophyta

Clase : Magnoliopsida

Orden : Myrtales

Familia : Myrtaceae

Género : Melaleuca L.

Especie : *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel

Según el **GBIF (2025)**, esta especie es endémica de Australia. Su basónimo corresponde a *Melaleuca linariifolia* var. alternifolia Maiden & Betche, siendo reconocida internacionalmente por ser la fuente natural del aceite esencial conocido como "aceite del árbol del té", cuyas propiedades antimicrobianas y antifúngicas han motivado su empleo en la formulación de biofungicidas agrícolas.

4.2.3.3.2. Origen del extracto

Stockton (2010) señala que el biofungicida Timorex Gold® se formula a partir del aceite esencial del árbol del té (*Melaleuca alternifolia*), una especie arbórea originaria del noreste de Australia, perteneciente a la familia Myrtaceae. Este árbol crece de manera natural en zonas húmedas y cálidas de Nueva Gales del Sur y Queensland, donde se cultiva bajo sistemas controlados destinados a la extracción de aceites esenciales con fines farmacéuticos, cosméticos y agrícolas. El aceite se obtiene mediante destilación por arrastre de vapor de las

hojas frescas, proceso que permite conservar intactas las fracciones volátiles ricas en monoterpenos oxigenados, responsables de su reconocida actividad antimicrobiana.

Sipcam (2019) complementa que el extracto empleado en la formulación comercial de Timorex Gold® se produce bajo normas estrictas de sostenibilidad y trazabilidad, asegurando una composición estandarizada en sus principales compuestos activos (terpinen-4-ol, γ-terpineno, α-terpineol y 1,8-cineol), los cuales representan más del 60 % del aceite total. Este origen natural, sumado a su pureza y a la ausencia de residuos tóxicos, permite que el producto sea compatible con los programas de agricultura ecológica y manejo integrado de enfermedades. De esta manera, *Melaleuca alternifolia* constituye la base botánica de un extracto con amplia aceptación mundial, cuya eficacia se ha comprobado en cultivos tropicales de alto valor como el cacao, el banano, el café y diversos frutales.

4.2.3.3.3. Principios activos y mecanismo de acción

Stockton (2010) explica que el extracto natural del árbol del té (*Melaleuca alternifolia*), principio activo de Timorex Gold®, está constituido principalmente por monoterpenos oxigenados tales como el terpinen-4-ol, γ-terpineno, α-terpineol y 1,8-cineol, responsables de su acción antifúngica y antibacteriana. Estos compuestos poseen un modo de acción multisitio, lo que significa que actúan simultáneamente sobre diferentes estructuras celulares del patógeno, impidiendo la generación de resistencia. Su principal efecto consiste en la alteración de la permeabilidad de la membrana celular de los hongos y bacterias, provocando la pérdida del contenido citoplasmático, la desorganización metabólica y la muerte del microorganismo. Además, el producto presenta una alta movilidad translaminar y efecto vapor, lo que favorece su distribución homogénea en la superficie foliar y garantiza una protección integral de los tejidos vegetales, incluso en zonas de difícil acceso.

Carson y Riley (1995) complementan que los aceites esenciales de *Melaleuca alternifolia* ejercen una acción antifúngica dependiente de la concentración y del tipo de

microorganismo afectado. Estos metabolitos naturales interfieren directamente en la síntesis de ergosterol (componente esencial de la membrana celular fúngica) y en la respiración mitocondrial, lo que bloquea los procesos energéticos vitales del patógeno. Asimismo, presentan una reconocida actividad antioxidante y antibacteriana, que contribuye a disminuir el estrés fisiológico en las plantas y a reforzar sus mecanismos naturales de defensa.

4.2.3.3.4. Características según ficha técnica

AgroKlinge S.A. (2022) indica que Timorex Gold® es un fungicida biológico de amplio espectro formulado como concentrado emulsionable (EC), cuyo ingrediente activo corresponde al aceite esencial de *Melaleuca alternifolia* en una concentración de 222,5 g/L, complementado con aditivos (77,5 g/L) que optimizan la estabilidad y penetración del producto. Este bioinsumo presenta aspecto líquido, color amarillo-marrón y olor característico, con un pH de 9,0 a 9,3 y una densidad de 0,931 g/L a 22 °C. Se clasifica como ligeramente tóxico, no corrosivo, no explosivo y estable durante dos años a temperatura inferior a 35 °C, lo que garantiza su conservación bajo condiciones adecuadas de almacenamiento.

Según la ficha técnica, Timorex Gold® actúa mediante múltiples mecanismos de acción sobre las células de hongos y bacterias fitopatógenas, provocando la destrucción de la membrana celular, el incremento de la permeabilidad, la pérdida de citoplasma y la inhibición de la respiración mitocondrial y del transporte de iones. Este efecto fisiológico interrumpe los procesos vitales del patógeno y detiene el crecimiento micelial, confiriéndole una acción tanto preventiva como curativa. Además, el producto presenta excelente capacidad de penetración cuticular, alcanzando los tejidos del mesófilo vegetal sin causar fitotoxicidad en los cultivos recomendados. Se aplica mediante pulverización con agua, utilizando volúmenes adecuados para lograr una cobertura uniforme y un control eficaz, preferentemente de manera preventiva para evitar la proliferación del patógeno.

Asimismo, Timorex Gold® se encuentra registrado ante el SENASA del Perú bajo el n.º PBUA 246-SENASA, siendo fabricado por Stockton Ltd. (Israel) e importado y distribuido por AgroKlinge S.A. en Lima. Estas características, junto con su origen natural, su baja toxicidad y su alta eficacia antimicrobiana, consolidan a Timorex Gold® como una herramienta segura y sustentable para el manejo fitosanitario de cultivos tropicales, donde contribuye al control ecológico de enfermedades.

4.3. Marco conceptual

4.3.1. Inhibición

IUPAC (1997) explican que "inhibición" es la disminución cuantificable de una reacción o proceso biológico tras la acción de un agente (inhibidor), concepto aplicable a la reducción del crecimiento micelial frente a tratamientos antifúngicos.

Bliss (1934) precisan que, en ensayos de patología vegetal, dicha disminución puede expresarse como porcentaje de inhibición respecto del testigo, mediante relaciones como $I = (C - T)/C \times 100$, ampliamente adoptadas en bioensayos de hongos.

4.3.2. Antagonismo

Haidar *et al.* (2016) señalan que "antagonismo" en control biológico describe la interferencia de un microorganismo sobre otro patógeno por competencia por recursos y sitio, antibiosis (metabolitos inhibitorios) y/o parasitismo directo, constituyendo la base mecanística de muchos agentes microbianos.

4.3.3. Biocontrol

FAO–CIPF (2001, ISPM 5) afirman que el control biológico emplea organismos vivos (o sus productos) para suprimir poblaciones de plagas y patógenos, definiendo formalmente "agente de control biológico" y su uso dentro de marcos fitosanitarios internacionales.

Köhl *et al*. (2025) complementan que los microbios biocontroladores actúan mediante múltiples modos (competencia, antibiosis, micoparasitismo e inducción de defensas), y subrayan la necesidad de evaluar su desempeño en condiciones de campo.

4.3.4. In vitro

NCBI (2023) indican que "*in vitro*" se refiere a procedimientos experimentales realizados fuera del organismo vivo, típicamente en matraces, placas o sistemas de cultivo controlados, para medir respuestas biológicas de manera aislada.

4.3.5. In vivo

NCBI (2023) aclaran que "*in vivo*" comprende estudios efectuados dentro de organismos vivos, donde las respuestas del hospedero y las interacciones ambientales influyen en el resultado del tratamiento evaluado.

4.3.6. ABCPE

Simko y Piepho (2012) explican que el área bajo la curva resume cuantitativamente la intensidad temporal de una enfermedad a partir de evaluaciones seriadas, siendo métrica clave en epidemiología vegetal (y base del refinamiento AUDPS).

V. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

5.1. Tipo y enfoque de la investigación

La presente investigación es de tipo aplicada, experimental con un enfoque cuantitativo.

5.2. Ubicación espacial

5.2.1. Ubicación política

- Región : Cusco
- Provincia : La Convención
- Distrito : Santa Ana (laboratorio UNIQ)
- Distrito : Echarati, Calcapampa (campo)

5.2.2. Ubicación geográfica

- Latitud : 12°76´89” Sur
- Longitud : 72°58´20” Oeste
- Altitud : 971 m.s.n.m.

5.2.3. Ubicación hidrográfica

- Vertiente : Atlántico
- Cuenca : Vilcanota

5.2.4. Ubicación ecológica

De acuerdo con la clasificación de Holdridge, la zona corresponde a un bosque húmedo subtropical (bh–ST)

5.3. Ubicación temporal

El experimento se desarrolló en dos fases complementarias: *in vitro*, bajo condiciones de laboratorio de la Universidad Intercultural de Quillabamba, e *in vivo*, en campo en el distrito de Echarati sector de Calcapampa. El periodo total de ejecución comprendió de julio de 2023

a junio de 2024; la fase de laboratorio se realizó entre julio y agosto del 2023, y la fase de campo de septiembre de 2023 a abril de 2024.

5.4. Materiales y metodología

5.4.1. Materiales

5.4.1.1. Material biológico

- Aislamiento de *Trichoderma virens*
- Inóculo de *Bacillus subtilis*
- Aislamiento de *Moniliophthora perniciosa*
- *Melaleuca alternifolia* (Timorex gold ®)

5.4.1.2. Equipos de laboratorio

- Autoclave
- Cámara de flujo laminar
- Cocina eléctrica
- PHmetro
- Microscópio
- Equipo de água destilada
- Microondas
- Balanza eléctrica cap. de 2200g.

5.4.1.3. Insumos de laboratorio

- Agar, dextrosa
- Antibióticos (ampicilina, Gentamicina)
- Azul de lactofenol

5.4.1.4. Materiales de laboratorio

- Placas Petri de vidrio 90 mm de diámetro, placas Petri descartable de 83 mm

— Mechero, bisturí, cuchillo, recipientes, ollas, materiales de limpieza

— Cinta parafilm, matraz de Erlenmeyer de 100 ml.

5.4.1.5. Equipos herramientas de campo

— Mochila asperjadora (20 litros)

— Vaso dosificador

— Etiquetas y cintas plásticas de identificación

5.4.2. Metodología

5.4.2.1. Fase in vitro

5.4.2.1.1. Diseño experimental

La fase *in vitro* se condujo bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA), por cuanto las condiciones de laboratorio ofrecieron homogeneidad ambiental y control absoluto de los factores experimentales. Según Gómez y Gómez (1984), este diseño es el más adecuado cuando las unidades experimentales son uniformes y los tratamientos se asignan aleatoriamente, garantizando independencia de los errores y validez estadística.

El DCA permitió evaluar la efectividad antagonista de tres agentes biológicos (*Trichoderma virens*, *Bacillus subtilis* y *Melaleuca alternifolia*) frente a *Moniliophthora perniciosa*. Cada tratamiento se repitió seis veces, considerando como unidad experimental una placa Petri con medio PDA inoculada con el tratamiento correspondiente. Las mediciones se realizaron cada 24 horas, registrando el diámetro de crecimiento micelial (mm) hasta el cubrimiento total del testigo.

5.4.2.1.2. Procedimiento experimental

5.4.2.1.2.1. Recolección de muestras de Moniliophthora perniciosa

Para el aislamiento de *Moniliophthora perniciosa*, se recolectaron muestras de tejidos infectados en plantaciones de cacao del sector Calcapampa, distrito de Echarati, provincia de La Convención. Se seleccionaron brotes apicales verdes con hipertrofia, correspondientes a la

fase biotrófica del patógeno (Figura 3A), así como brotes apicales necróticos con formación de basidiocarpos (Figura 3C–D), característicos de la fase saprofítica.

Las muestras fueron introducidas en bolsas de polipropileno brillante, rotuladas y trasladadas al Laboratorio de Fitopatología y Microbiología de la Universidad Nacional Intercultural de Quillabamba en cajas de tecnopor, asegurando condiciones adecuadas de transporte y preservación. Este procedimiento se realizó conforme a la metodología descrita por **French (1980).**

5.4.2.1.2.2. Aislamiento del patógeno

El aislamiento de *Moniliophthora perniciosa* se realizó en el Laboratorio de Fitopatología y Microbiología de la Universidad Nacional Intercultural de Quillabamba, siguiendo la metodología de descarga de basidiosporas descrita por **French (1980).**

1. **Preparación del medio de cultivo (PDA)**

   Para la elaboración de un litro de medio Papa Dextrosa Agar (PDA) se utilizaron los siguientes componentes: papa (250 g), dextrosa (16 g), agar (18 g) y cloranfenicol (250 mg). Las papas se lavaron, pelaron y cortaron en trozos pequeños, hervidas durante 15 minutos en un litro de agua. El extracto resultante se filtró y, en el filtrado, se incorporaron la dextrosa y el agar. La mezcla se disolvió completamente mediante calentamiento en horno microondas y se distribuyó en frascos de vidrio (200 mL por unidad), los cuales fueron esterilizados en autoclave a 121 °C durante 30 minutos.

2. **Vertido y solidificación del medio**

   En cabina de bioseguridad previamente desinfectada con radiación ultravioleta, el medio PDA tibio se suplementó con 100 mg de cloranfenicol por cada 200 mL, con el fin de inhibir el crecimiento bacteriano. Posteriormente, se vertieron aproximadamente 20 mL de medio por placa Petri descartable (82 mm), dejándose solidificar bajo condiciones asépticas.

Figura 4.

Recolección de muestras de Momiliophthora perniciosa.



Nota: A, Brote apical sano; B, Brote apical con hipertrofia; C, Brote apical con hipertrofia necrosado; D, Producción de basidiocarpo; E, Mazorcas con hipertrofia; F, Diseminación de basidiosporas (inóculo secundario).

3. Siembra de basidiocarpos y descarga de basidiosporas

Los basidiocarpos de M. perniciosa, semejantes a pequeñas sombrillas de color rosado (Figura 4A), fueron fijados con vaselina en la parte interna de la tapa de las placas Petri que contenían el medio PDA solidificado (Figura 4B–C). Las placas se sellaron con cinta parafilm y se mantuvieron a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) durante 24 horas. En este lapso, las basidiosporas se depositaron sobre la superficie del medio, observándose como un fino polvillo blanco.

Finalmente, las colonias emergentes se repicaron a nuevas placas con PDA para su purificación, obteniéndose cultivos viables y libres de contaminantes, adecuados para los ensayos de antagonismo.

5.4.2.1.2.3. Aislamiento de Trichoderma virens y Bacillus subtilis

Las cepas de *Trichoderma virens* y *Bacillus subtilis* empleadas en los ensayos *in vitro* fueron obtenidas de la micoteca del laboratorio de fitopatología y microbiología de la Universidad Nacional Intercultural de Quillabamba. ambas cepas habían sido previamente preservadas bajo condiciones de refrigeración (4 °C) para su uso experimental.

Para la reactivación, los aislados se sembraron en medio Papa Dextrosa Agar (PDA) esterilizado y se incubaron a 25 ± 2 °C por un periodo de 5 a 7 días, hasta observar un crecimiento micelial activo en el caso de *Trichoderma virens*, y una película bacteriana uniforme en el caso de *Bacillus subtilis*. Los cultivos obtenidos se emplearon directamente en las pruebas de antagonismo frente a *Moniliophthora perniciosa*, siguiendo los procedimientos establecidos por **French (1980).**

5.4.2.1.2.4. Enfrentamiento dual entre antagonistas y patógeno

El enfrentamiento dual se realizó en placas petri con medio Papa Dextrosa Agar (PDA) bajo condiciones controladas de laboratorio, siguiendo la metodología propuesta por French (1980). Este ensayo tuvo como finalidad establecer el radio de crecimiento micelial base de *Moniliophthora perniciosa*, con el propósito de comparar posteriormente el efecto inhibitorio ejercido por los agentes biológicos evaluados.

Para el caso de *Trichoderma virens*, se colocaron discos de micelio de 5 mm de diámetro en lados opuestos de la placa, enfrentando al aislamiento del patógeno. Como tratamiento testigo se utilizó una placa con M. perniciosa sembrada frente a sí misma (Figura 5A), mientras que las combinaciones *Trichoderma virens* × *Moniliophthora perniciosa* y *Trichoderma sp*. × *Moniliophthora perniciosa* constituyeron los tratamientos de control

biológico (Figura 5B). Las placas se incubaron a 25 ± 2 °C y se midió el crecimiento radial cada 24 horas hasta el cubrimiento total del testigo.

Para determinar la capacidad de control de trichoderma, se comparó el radio de crecimiento micelial en la inhibición del tratamiento de control (*T. virens***M. perniciosa* = 22.3 mm) con el tratamiento testigo (*M.perniciosa** *M.perniciosa* = 40.6 mm), donde la diferencia es de 18.3 mm de radio de crecimiento micelial ganado por *T. virens,* equivalente a 0.21 o 21% de control, conociendo que 40.6 mm de crecimiento micelial de *M. pernciosa* (testigo) es el 100 %. y (*Trichoderma* sp* *Moniliohthora perniciosa* = 57.83 mm*)* donde *M.perniciosa* tuvo un mayor crecimiento micelial.

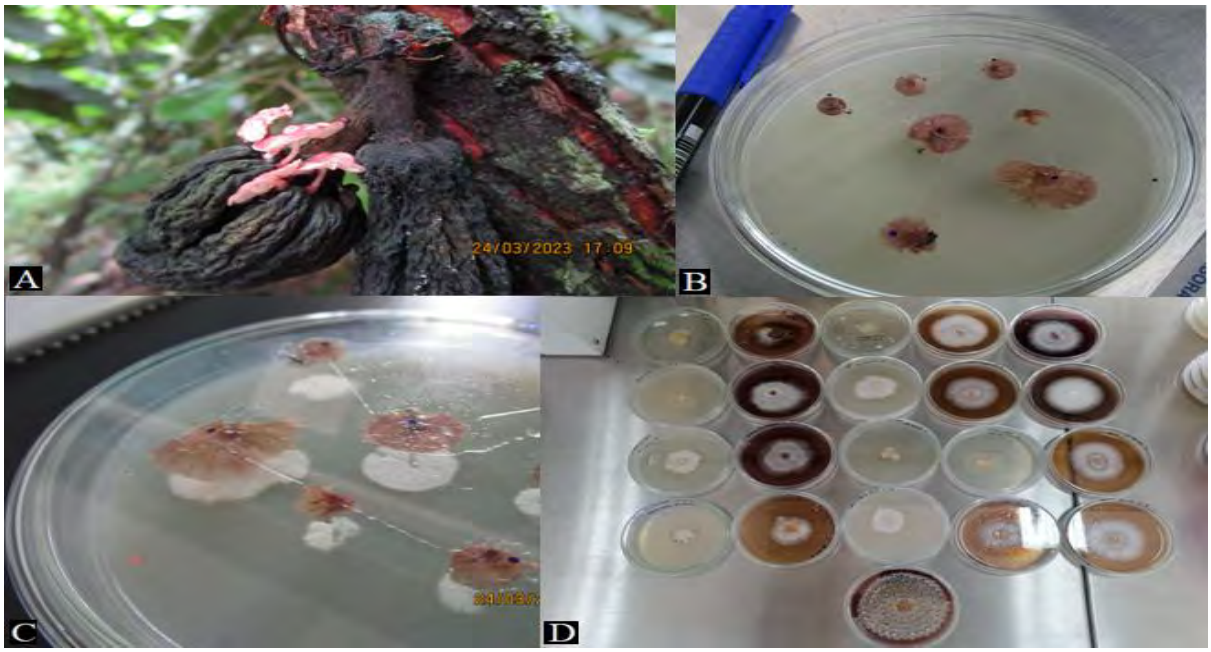
En el caso de *Bacillus subtilis*, el enfrentamiento se efectuó cubriendo la superficie del medio PDA con una capa bacteriana activa, sobre la cual se colocaron discos de M. perniciosa de 5 mm de diámetro (Figura 6A). El testigo consistió únicamente en el crecimiento del patógeno sobre PDA (Figura 6B). La ausencia de crecimiento micelial del patógeno sobre la superficie colonizada por *Bacillus subtilis* se consideró como control total (100 %), evidenciando su elevada acción inhibitoria.

En el enfrentamiento de *Melaleuca alternifolia* y *Moniliophthora perniciosa* se añadió M. alternifolia a la dosis planteada en el medio de cultivo de PDA, luego se procedió al plaqueo y esperar que solidifique. Seguidamente se procedió al rotulado de dos líneas perpendiculares en la base con plumón indeleble en la base de la placa (Figura 7, A), la evaluación consistió en medir el diámetro AB y CD, cada 24 horas, el experimento termina cuando el testigo llena completamente la placa Petri. **French (1980)**

Los resultados de este ensayo permitieron establecer una referencia micelial inicial y confirmar la eficacia biológica de los agentes evaluados, los cuales fueron posteriormente aplicados en condiciones *in vivo*.

Figura 5.

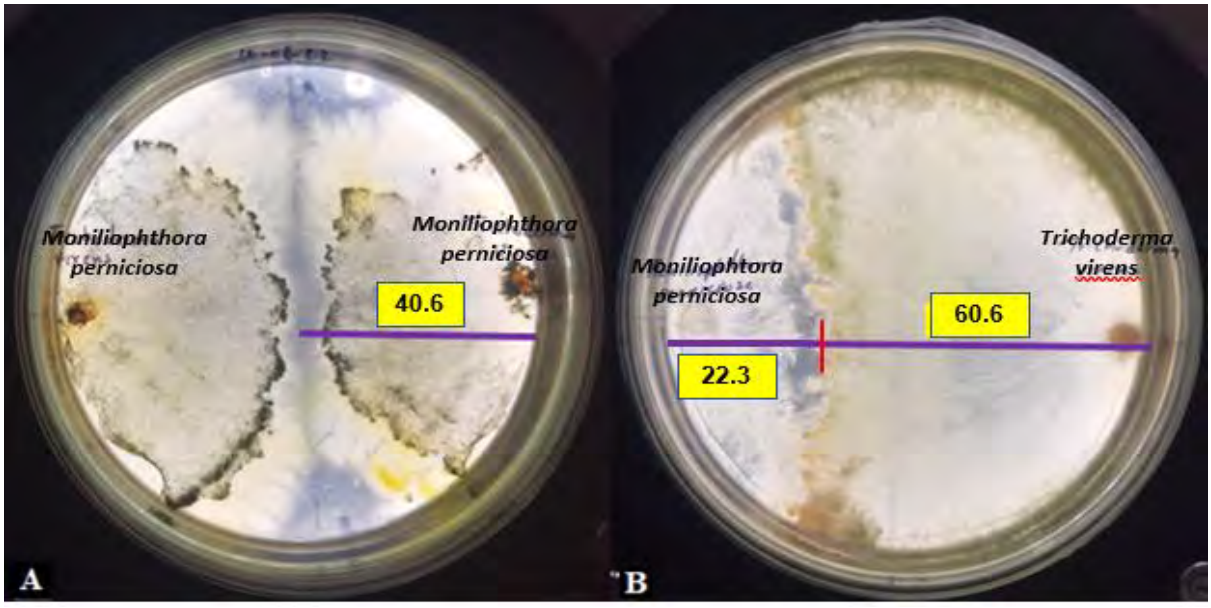
Aislamiento de Moniliophthora perniciosa



Nota: A, Descarga de basidiosporas; B y C, Descarga de basidiosporas en placa Petri con PDA; D, Repique y purificación.

Figura 6.

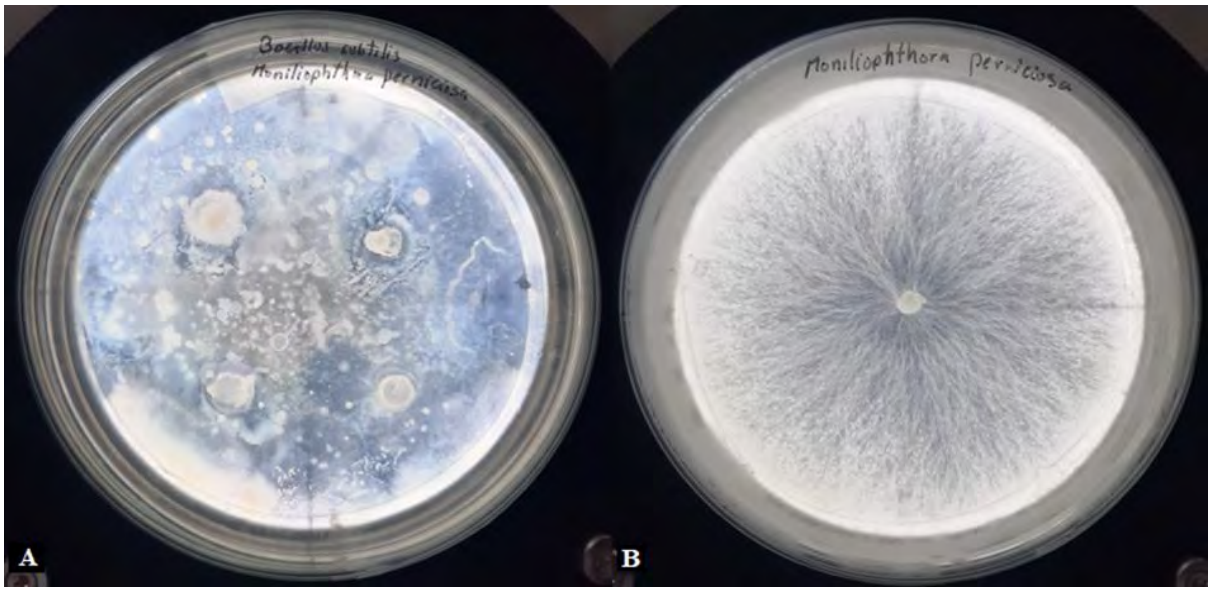
Enfrentamiento Trichoderma virens frente a Moniliophthora perniciosa



Nota: A, *Moniliophthora perniciosa* * *Moniliophthora perniciosa* (testigo); B, *Trichoderma virens* * *Moniliophthora perniciosa*.

Figura 7.

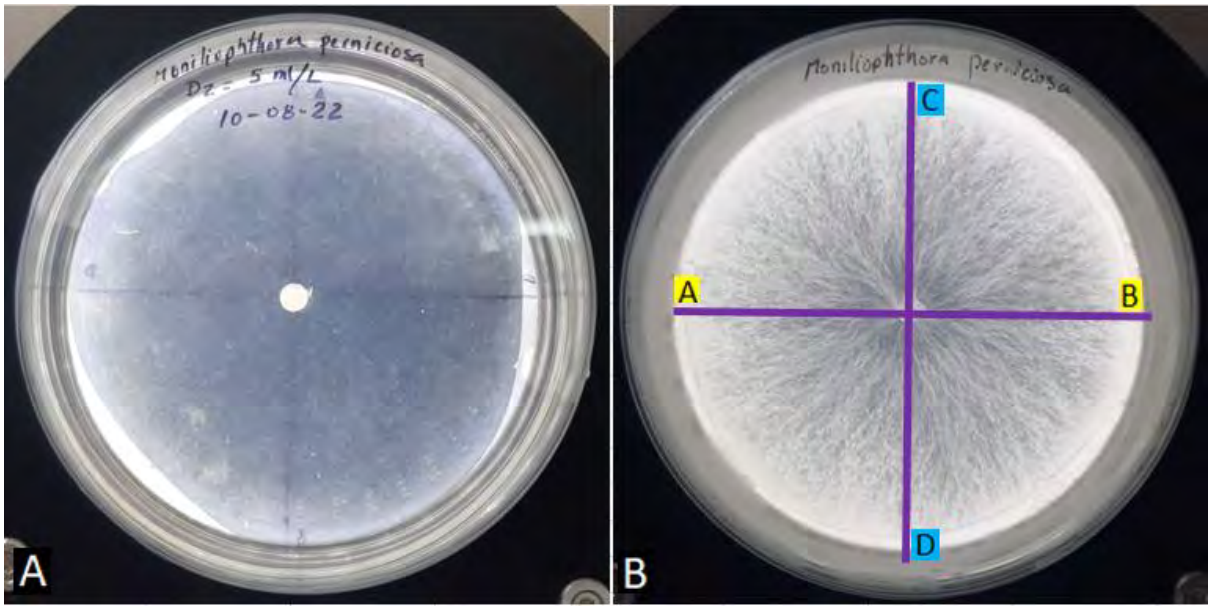
Enfrentamiento Bacillus subtilis frente a Moniliophthora perniciosa



Nota: A, *Bacillus subtilis* * *Moniliophthora perniciosa*; B, Moniliophtgora perniciosa (testigo).

Figura 8.

Medio envenenado con Melaleuca alternifolia para Moniliophthora perniciosa



Nota: A, 5 ml de *Melaleuca alternifolia* * *Moniliophthora perniciosa*; B, *Moniliophthora perniciosa* (Testigo).

5.4.2.1.2.5. Evaluación del crecimiento micelial e inhibición

La evaluación del crecimiento micelial de *Moniliophthora perniciosa* se efectuó en las placas de enfrentamiento dual, con el propósito de establecer la línea de base micelial y determinar el efecto inhibitorio de los agentes biológicos (*Trichoderma virens*, *Bacillus subtilis* y *Melaleuca alternifolia*). Las mediciones se realizaron cada 24 horas mediante observación microscópica directa, registrando el avance radial del micelio (mm) hasta el cubrimiento total de la placa testigo. Este análisis permitió establecer con precisión la capacidad antagonista de cada agente biológico frente al patógeno, constituyendo la base para la interpretación comparativa de la eficacia en condiciones *in vivo*.

5.4.2.2. Fase in vivo

5.4.2.2.1. Diseño experimental

La fase *in vivo* se desarrolló en una parcela de cacao instalada de 5 años bajo un Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA) con arreglo factorial 3×4, correspondiente a tres agentes biológicos (variable independiente) y cuatro niveles de dosis (variable independiente) frente a escoba de bruja que se evaluó el promedio del número de brotes hipertrofiados (variable dependiente). Este diseño permitió controlar la variabilidad ambiental del campo experimental y evaluar de manera simultánea el efecto principal y la interacción entre ambos factores. De acuerdo con Gómez y Gómez (1984), el DBCA es el diseño más adecuado cuando existen gradientes ambientales dentro del área experimental, ya que la distribución en bloques homogéneos reduce el error experimental y mejora la precisión estadística de los resultados.

Cuadro 01 Cuadro de tratamientos y dosificación

Agentes	**Mecanismos**	**Dosis**		
		Baja (D1)	**Media (D2)**	**Alta(D3)**
T. virens	Micoparasitismo, enzimas	**5g/L**	**10g/L**	**15g/L**
B. subtilis	Antibiosis (iturina)	**5ml/L**	**10ml/L**	**15ml/L**

M. alternifolia	Terpenos antifúngicos	**2.5ml/L**	**5ml/L**	**7ml/L**

Los factores evaluados fueron los siguientes:

- Factor A: Agentes biológicos (*Trichoderma virens*, *Bacillus subtilis* y *Melaleuca alternifolia*).
- Factor B: Dosis de aplicación (D_1 = baja, D_2 = media, D_3 = alta, y testigo sin aplicación).

Cada combinación factorial conformó un tratamiento, totalizando 12 tratamientos con tres repeticiones, los cuales se distribuyeron aleatoriamente dentro de cada bloque.

5.4.2.2.2. Ejecución experimental

5.4.2.2.2.1. Caracterización del campo experimental

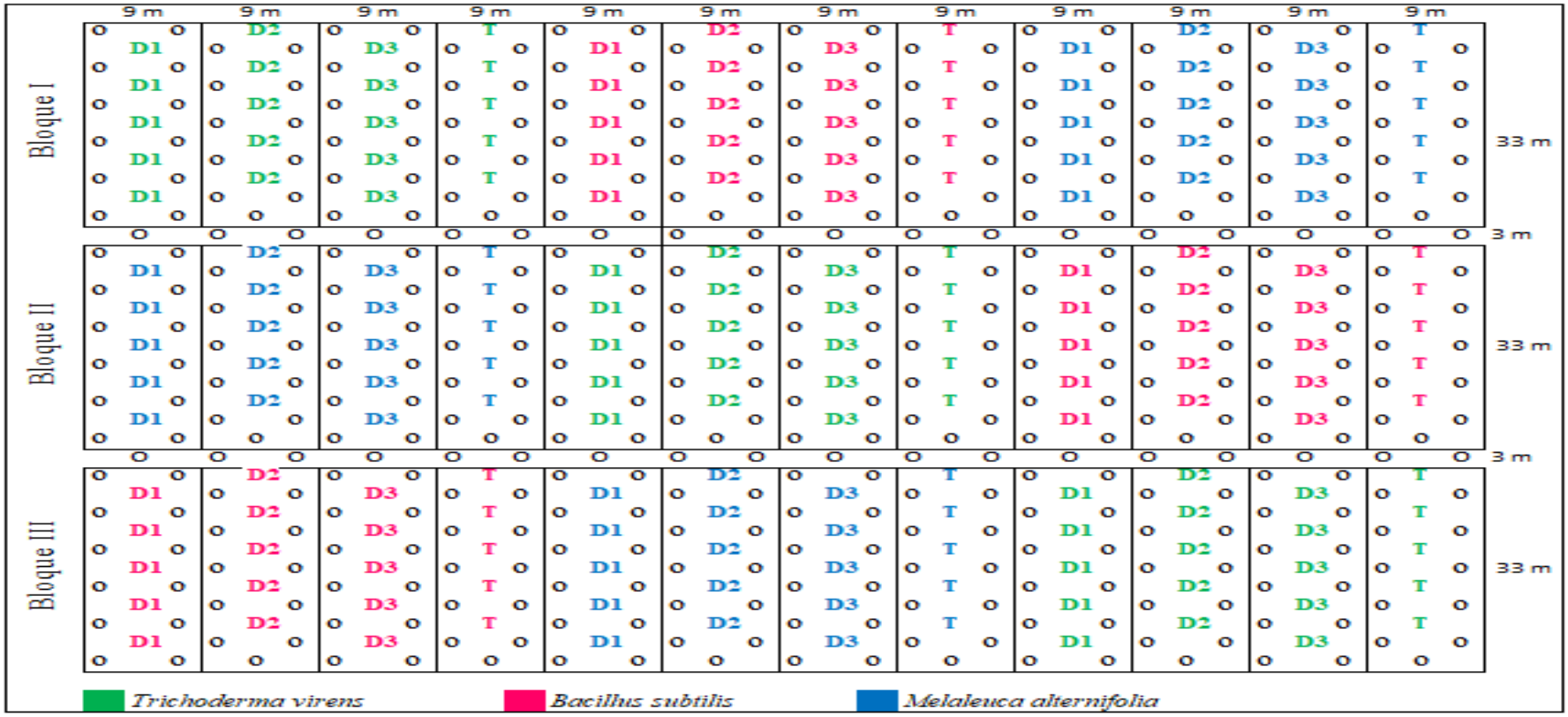
El campo experimental se estableció en el sector de Calcapampa distrito de Echarati, provincia de La Convención, región Cusco. El experimento se estructuró bajo un Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA) con tres repeticiones (Bloques I, II y III), cada una conformada por 12 parcelas experimentales (Figura 8.), que representaron las combinaciones de los tratamientos del arreglo factorial 3×4. Las dimensiones del campo experimental fueron:

- Largo total: 108 m
- Ancho total: 105 m
- Área total: 11 340 m²

Cada bloque tuvo un área de 3 564 m², dividido en 12 parcelas de 9 m × 33 m (297 m²). Cada parcela contó con 17 plantas útiles, con distanciamientos de tres por tres.

Figura 9.

Distribución de bloques y parcelas del campo experimental



5.4.2.2.2.2. Identificación de tratamientos

Cada tratamiento estuvo constituido por 17 plantas de cacao dispuestas dentro de una parcela experimental, las cuales fueron marcadas con cintas plásticas de color (1 m × 0.10 m) para su identificación durante las aplicaciones y evaluaciones de campo.

La codificación de tratamientos correspondió a la combinación factorial entre los agentes biológicos y las dosis de aplicación, más el testigo sin tratamiento, de acuerdo con el siguiente esquema:

- *Trichoderma virens* × D_1: Verde oscuro.
- *Trichoderma virens* × D_2: Verde limón.
- Trichoderma virens × D_3: Amarillo.
- *Bacillus subtilis* × D_1: Rojo.
- *Bacillus subtilis* × D_2: Anaranjado.
- *Bacillus subtilis* × D_3: Rosado.
- *Melaleuca alternifolia* × D_1: Azul.
- *Melaleuca alternifolia* × D_2: Celeste.
- *Melaleuca alternifolia* × D_3: Morado.
- Testigo (sin aplicación): Blanco leche.

Cada color permitió la identificación visual inmediata de los tratamientos en campo, facilitando la ejecución de las aplicaciones, el registro de datos y el control de errores durante las evaluaciones. La distribución aleatoria de estos tratamientos dentro de cada bloque se muestra en la Figura 8, garantizando homogeneidad y rigurosidad experimental.

5.4.2.2.2.3. Masificación y preparación de inoculantes

La masificación de los agentes biológicos se efectuó en el Laboratorio de Fitopatología y Microbiología de la Universidad Nacional Intercultural de Quillabamba, siguiendo protocolos microbiológicos estandarizados. Cada inoculante fue preparado de manera

independiente, utilizando medios de cultivo específicos que favorecieron su crecimiento y viabilidad para la aplicación en campo.

En el caso de *Trichoderma virens*, la multiplicación se realizó en granos de arroz precocido previamente esterilizados en autoclave a 121 °C durante 30 minutos. Posteriormente, los granos se inocularon con fragmentos de micelio activo y se incubaron a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) durante siete días, hasta observar una colonización completa de color verde característico.

Para *Bacillus subtilis*, la masificación se llevó a cabo en medio líquido elaborado a base de extracto de papa (250 g/L) y dextrosa (15 g/L), el cual fue esterilizado bajo las mismas condiciones. La inoculación se efectuó con una suspensión bacteriana activa, manteniendo la incubación a temperatura ambiente durante 48 horas, hasta obtener una alta densidad celular.

Finalmente, *Melaleuca alternifolia* (Timorex Gold®) se utilizó como producto formulado comercialmente, preparándose diluciones homogéneas de acuerdo con las dosis establecidas en el diseño experimental.

Los inoculantes obtenidos fueron trasladados al campo experimental en condiciones asépticas, asegurando su integridad y efectividad biológica para las aplicaciones posteriores.

5.4.2.2.2.4. Aplicación de tratamientos biológicos

La aplicación de los agentes biológicos se efectuó en campo utilizando una mochila asperjadora de 20 litros de capacidad, procurando cubrir uniformemente toda la superficie de las plantas (hojas, ramas, brotes y frutos). Cada producto se aplicó según las dosis establecidas en el diseño experimental, con intervalos mensuales entre aplicaciones.

1. **Aplicación de *Trichoderma virens***

   El inóculo de *Trichoderma virens* se masificó en granos de arroz precocido, los cuales fueron esterilizados en autoclave a 121 °C durante 30 minutos. Las dosis empleadas fueron las siguientes:

Dosis baja D1	5 g/L
Dosis media D2	10 g/L
Dosis alta D3	15 g/L

Para la preparación, la cantidad correspondiente de granos colonizados se colocó en un balde con 20 litros de agua limpia. Con guantes de jebe se frotaron manualmente los granos hasta desmenuzarlos completamente, obteniendo una suspensión de color verde característico. Luego, el contenido se coló y se transfirió a la mochila asperjadora para su aplicación. La aspersión se efectuó sobre toda la planta, con el propósito de favorecer la colonización del hongo antagonista y prevenir la proliferación del inóculo secundario de *Moniliophthora perniciosa*.

2. **Aplicación de *Bacillus subtilis***

La masificación del antagonista bacteriano se realizó en medio líquido esterilizado, compuesto por extracto de papa (250 g/L) y dextrosa (15 g/L). Las dosis aplicadas fueron las siguientes:

Dosis baja D1	5 ml/L
Dosis media D2	10 ml/L
Dosis alta D3	15 ml/L

La aplicación se efectuó mediante aspersión foliar, cubriendo la totalidad de la planta. El objetivo fue promover la colonización bacteriana sobre el tejido del hospedero y ejercer un efecto competitivo y antibiótico frente al patógeno.

3. **Aplicación de *Melaleuca alternifolia* (Timorex Gold®)**

El producto comercial Timorex Gold®, formulado a base de aceite esencial de *Melaleuca alternifolia*, se aplicó en diluciones acuosas preparadas al momento de la aspersión, conforme a las siguientes dosis:

Dosis baja D1	2.5 ml/L
Dosis media D2	5 ml/L
Dosis alta D3	7 ml/L

La aplicación se realizó de forma foliar, cubriendo homogéneamente toda la superficie aérea de la planta. Las aspersiones se efectuaron en horas de menor radiación solar (07:00–09:00 a. m. y 16:00–18:00 p. m.), para maximizar la eficacia del tratamiento y reducir pérdidas por evaporación.

5.4.2.2.2.5. Frecuencia de aplicación

Las aplicaciones de los tratamientos biológicos se realizaron con una frecuencia mensual (cada 30 días), durante un periodo total de ocho meses, comprendido entre septiembre de 2023 y abril de 2024. Antes de cada aplicación se efectuó el registro del número de brotes ortotrópicos y plagiotrópicos con hipertrofia, a fin de establecer la línea de base y evaluar la respuesta de los tratamientos a lo largo del tiempo.

Cada aplicación se ejecutó de manera uniforme en todas las plantas experimentales, manteniendo un volumen de aspersión constante por unidad de área y siguiendo las mismas condiciones ambientales (horas de baja radiación solar y humedad relativa estable). Esta periodicidad permitió asegurar la persistencia del efecto biocontrolador de los agentes biológicos frente a *Moniliophthora perniciosa* y facilitar el seguimiento comparativo entre tratamientos y dosis.

5.4.2.3. Métodos de evaluación

5.4.2.3.1. Efecto de tres agentes con tres dosis (in vitro)

En la fase *in vitro* se evaluó el efecto de tres agentes biológicos (*Trichoderma virens*, *Bacillus subtilis* y *Melaleuca alternifolia*) sobre el crecimiento micelial de *Moniliophthora perniciosa*.

La variable analizada fue el radio de crecimiento micelial (mm), medido desde el punto de inoculación hasta el borde de la colonia del patógeno, a intervalos de 24 horas. Las mediciones se realizaron hasta alcanzar el cubrimiento total del testigo, considerando la observación final a las 144 o 168 horas después de la siembra (HDS), según el agente evaluado.

Las mediciones se efectuaron con apoyo de microscopio óptico y utilizando una regla micrométrica calibrada, registrándose los valores promedio por placa Petri (Anexos 2, 3 y 4). Estos datos permitieron comparar el desarrollo micelial del patógeno frente a los diferentes tratamientos y establecer el potencial de inhibición relativa de cada agente biológico bajo condiciones controladas de laboratorio.

5.4.2.3.2. Efecto de tres agentes con tres dosis (in vivo)

En la fase *in vivo* se evaluó la efectividad de tres agentes biológicos (*Trichoderma virens*, *Bacillus subtilis* y *Melaleuca alternifolia*) aplicados en tres dosis (baja, media y alta) sobre la incidencia de la enfermedad “escoba de bruja” (*Moniliophthora perniciosa*) en plantas adultas de cacao (*Theobroma cacao* L.).

Las evaluaciones se realizaron mensualmente durante ocho meses, registrándose en cada parcela experimental el número de brotes con hipertrofia (N°) por planta útil, distinguiendo brotes ortotrópicos y plagiotrópicos. Estos conteos se promediaron por tratamiento y bloque, constituyendo la variable principal de respuesta.

De manera complementaria, se determinó el Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad (ABCPE), a fin de describir el comportamiento temporal de la epidemia y la eficacia de los agentes biológicos en la reducción del inóculo.

Los valores menores de ABCPE indican una menor tasa de infección y, por tanto, mayor eficacia biocontroladora del tratamiento. Las mediciones se realizaron siempre antes de cada aplicación, asegurando consistencia temporal en los registros y permitiendo una interpretación epidemiológica precisa.

5.4.2.4. Análisis estadístico

5.4.2.4.1. Para la fase in vitro

Los datos obtenidos del crecimiento micelial de *Moniliophthora perniciosa* (mm) fueron inicialmente organizados y depurados mediante Microsoft Excel 2019, con el fin de calcular los valores promedios por tratamiento y preparar la base de datos para el análisis estadístico.

Posteriormente, se aplicó un Análisis de Varianza (ANVA) bajo el modelo de Diseño Completamente al Azar (DCA), con el propósito de determinar la existencia de diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos evaluados. Cuando el ANVA mostró significancia al nivel de $p \leq 0.05$, se procedió a la comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$), con el fin de establecer el tratamiento con mayor efecto antagonista sobre el crecimiento micelial del patógeno.

Todo el procesamiento estadístico se efectuó utilizando el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System, versión 9.4), garantizando precisión en los cálculos y validez en la interpretación de los resultados.

5.4.2.4.2. Para la fase in vivo

Los datos registrados en campo relacionados con el número de brotes hipertrofiados (N°) y el Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad (ABCPE), fueron consolidados y promediados inicialmente en Microsoft Excel 2019, para su posterior análisis estadístico.

Se aplicó un Análisis de Varianza (ANVA) correspondiente al Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) con arreglo factorial (3×4), a fin de identificar efectos principales y de interacción entre los agentes biológicos (*Trichoderma virens*, *Bacillus subtilis* y *Melaleuca alternifolia*) y las dosis de aplicación (baja, media, alta y testigo).

En los casos donde el ANVA indicó diferencias significativas ($p \leq 0.05$), se efectuó la comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) para determinar el tratamiento más eficaz en la reducción de la incidencia y el progreso de *Moniliophthora perniciosa*.

El análisis se realizó empleando el software SAS versión 9.4, asegurando una adecuada precisión estadística y consistencia metodológica en la interpretación de los resultados experimentales.

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

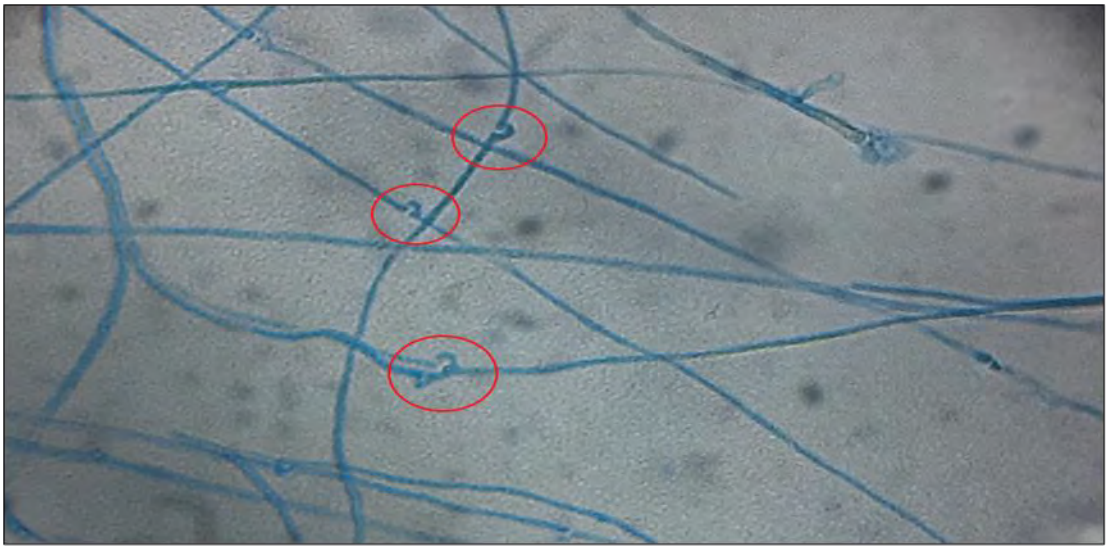
6.1. Efecto de tres agentes y tres dosis (in vitro)

6.1.1. Aislamiento de Moniliophthora perniciosa por descarga de basiodiosporas

A los diez días de incubación en cámara de microcultivo, el aislamiento de *Moniliophthora perniciosa* presentó un micelio hialino, ramificado y de crecimiento lento, con un diámetro que varió entre 1 y 3,8 µm. Se observaron fíbulas o clampas características en las hifas, cuya morfología se asoció directamente con el grosor del micelio en el punto de formación. Estas estructuras son diagnósticas del género y confirman la identidad morfológica del hongo (Figura 9).

Figura 10.

Estructuras microscópicas de Moniliophthora perniciosa



Nota: Observación a los diez días de incubación en microcultivo (círculos rojos), donde se aprecian fíbulas o clampas características del hongo.

6.1.2. Evaluación de la efectividad de Trichoderma sp, Bacillus subtilis y Melaleuca alternifolia frente a Moniliohthora perniciosa

6.1.2.1. Enfrentamiento de Trichoderma virens y Trichoderma sp frente a Moniliophthora perniciosa.

En el Anexo 2 y la Tabla 1, se muestran los resultados de la inhibición de M. perniciosa frente a *Trichoderma virens* y T. sp. a las 168 horas después de la siembra (HDS), con una temperatura promedio de 25 °C. El patógeno mostró un crecimiento micelial lento, motivo por el cual se sembró inicialmente M. perniciosa y, al alcanzar la mitad de la placa, se procedió a inocular las cepas de Trichoderma.

El contacto entre colonias permitió evidenciar que solo *Trichoderma virens* ejerció inhibición efectiva sobre el crecimiento del micelio del patógeno.

Tabla 1.

Crecimiento micelial de Moniliophthora perniciosa frente a Trichoderma spp. (mm).

Tratamiento		Radio de crecimiento micelial (mm)					
Horas después siembra		168					
Placas Petri		P1	P2	P3	P4	P5	P6
TVx MP	TV	60	59	62	60	60	63
	MP	23	24	21	23	23	20
TxMP	T	25	23	27	24	25	27
	MP	58	60	56	59	58	56
MPxMP	MP	43	43	42	43	42	41
	MP	40	40	41	40	41	42

Nota: Datos promedio obtenidos a las 168 HDS y 25 °C bajo condiciones *in vitro*.

Tabla 2.

Análisis de variancia de la inhibición micelial de Moniliophthora perniciosa (mm), al enfrentarse a Trichoderma virens, Trichoderma sp, a las 168 HDS, 25 °C.

FUENTE DE VARIACIÓN	G.L.	S.C.	C.M.	F CALCULADO	Pr>F 0.05
Tratamiento	2	3782.1111	1891.0555	1031.4800	<.0001 *
Error	15	27.5000	1.8333		
Total	17	3809.6111			
CV(%)	3.36				

El análisis de variancia (Tabla 2) nos indica que, la inhibición de *Moniliophthora perniciosa* fue diferente frente a *Trichoderma virens* y *Trichoderma* sp, por tanto, es significativo estadísticamente a un nivel de significancia de 0.05, esto se debe a que *Trichoderma virens* tuvo la capacidad de inhibir a *Moniliophthora perniciosa* por mico parasitismo, que consiste en parasitar el micelio de *Moniliophthora perniciosa* y alimentarse de las sustancias citoplasmáticas de sus hifas. El coeficiente de variabilidad resulto 3.36 %, el cual indica que, el experimento se llevó bajo condiciones controladas y las evaluaciones realizadas de medición fueron precisas y exactas.

Tabla 3.

Prueba Tukey (0.05), de la inhibición micelial de Moniliophthora perniciosa (mm), al enfrentarse a Trichoderma virens, Trichoderma sp a las 168 HDS, 25 °C

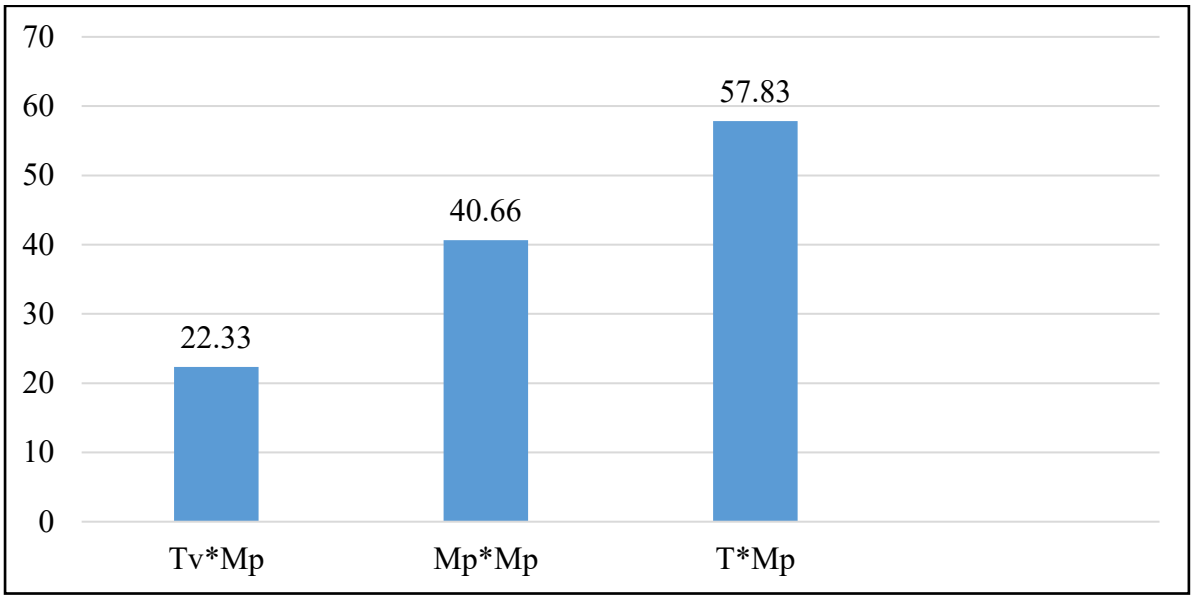
Tratamiento		Inhibición (mm) promedio	Agrupamiento		
Tv * Mp	*Trichoderma virens * Moniliohthora perniciosa*	22.33	a		
Mp*Mp	*Moniliohthora perniciosa* Moniliohthora perniciosa*	40.66		b	
T*Mp	*Trichoderma sp* Moniliohthora perniciosa*	57.83			c

La comparación de medias por Tukey (Tabla 3), nos muestra un agrupamiento en tres grupos, donde *Trichoderma virens* es el mejor hongo antagonista, por su capacidad de inhibir el crecimiento micelial de *Moniliophthora perniciosa*, a comparación de *Trichoderma* sp, que

fue inhibido por *Moniliophthora perniciosa*, por tanto, no presenta capacidad antagonica, entonces se recomendaría para aplicación en campo a *Trichoderma virens.*

Figura 11.

*Grafica donde se observa la comparación de medias entre Trichoderma virens * Moniliohthora perniciosa, Moniliohthora perniciosa* Moniliohthora perniciosa y Trichoderma sp* Moniliohthora perniciosa.*



En la (Figura 10) se observa el crecimiento micelial promedio de 22.33 mm de *Moniliohthora perniciosa* al enfrentarse a *Trichoderma virens,* también se observa el enfrentamiento de *Moniliohthora perniciosa* frente *Moniliohthora perniciosa* el cual es el testigo del experimento y como tercer enfrentamiento se tiene a *Trichoderma* sp frente a *Moniliohthora perniciosa* con un crecimiento micelial promedio de 57.83.

6.1.2.2. Inhibición de Moniliophthora perniciosa con Melaleuca alternifolia y Bacillus subtilis

En el anexo 4 y tabla 4, nos muestra los datos del diámetro de crecimiento micelial de miniliophtora perniciosa frente a los inhibidores *Melaleuca alternifolia* y *Bacillus subtilis*, donde se observó que, *Melaleuca alternifolia* inhibió completamente el crecimiento micelial

de *Moniliophthora perniciosa*, debido a que, su aceite esencial presenta componentes como el Timol, Carvacrol, Aldehído, Cinámico y Geraniol, los cuales presentan actividad antimicótica. *Bacillus subtilis* es una bacteria antagonista, que también inhibió completamente a *Moniliophthora perniciosa*, ya que su actividad biocontroladora se atribuye a la producción de metabolitos antimicóticos, como surfactina e iturina A, que tienen un amplio espectro de acción contra patógenos vegetales.

La inhibición ha sido total al 100 % ya que los valores registrados corresponden a 0. Por lo tanto, no corresponde hacer una prueba estadística.

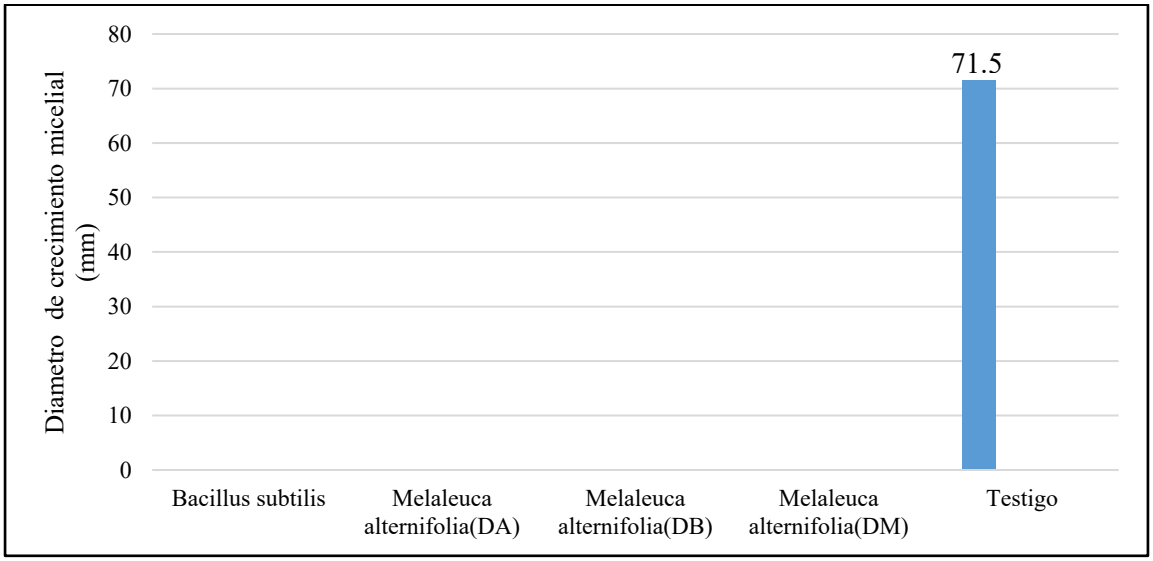
Tabla 4.

Crecimiento micelial en la inhibición de Moniliophthora perniciosa (mm), al enfrentarse a Melaleuca alternifolia en dosis (baja, media y alta) y Bacillus suptilis, a las 144 HDS, 25 °C

Tratamiento							
Días después siembra		144					
Placas petri		P1	P2	P3	P4	P5	P6
Melaleuca alternifolia	2.5 ml/L	0	0	0	0	0	0
	5 ml/L	0	0	0	0	0	0
	7 ml/L	0	0	0	0	0	0
Bacillus subtilis		0	0	0	0	0	0
Testigo		71	73	71	71	71	72

Figura 12.

Gráfico del efecto de la inhibición de Bacillus suptilis y Melaleuca alternifolia y el testigo.



En la (Figura 11) se observa el promedio del crecimiento micelial en (mm) del patógeno en estudio al enfrentarse a Bacillus suptilis y *Melaleuca alternifolia* en dosis (alta, media y baja) donde los agentes biológicos inhibieron por completo el crecimiento micelial del patógeno en estudio, mientras que, en testigo si se ha registrado crecimiento micelial.

En la presente investigación, el aislamiento de *Moniliophthora perniciosa* se realizó mediante la técnica de descarga de basidiosporas provenientes del basidiocarpo, lo que permitió obtener colonias puras del hongo en condiciones de laboratorio. Esta metodología contrasta con la empleada por **Ramos (2022)** en su estudio sobre la diversidad genética de este patógeno en el ecosistema cacaotero de Bagua (Amazonas), donde optó por el aislamiento a partir de tejidos infectados. En el presente trabajo, la identificación del hongo se corroboró no solo por el origen del aislamiento, sino también por la observación microscópica de estructuras típicas como las fíbulas (clamp connections), lo cual coincide con lo reportado por **Fernández (2018).**

Las pruebas de antagonismo efectuadas con *Trichoderma virens* evidenciaron una notable inhibición del crecimiento micelial de *M. perniciosa*. El agente biocontrolador mostró una expansión progresiva que, en un periodo de 168 horas, invadió una porción significativa de la colonia del patógeno. Este efecto puede atribuirse, según **Bonilla (2006)**, a la producción de enzimas hidrolíticas como quitinasas, β-glucanasas, celulasas y proteasas por parte de cepas de *Trichoderma* spp., las cuales son fundamentales en su mecanismo de acción antagonista.

Por su parte, *Bacillus subtilis* mostró un efecto inhibitorio del 100 % en la confrontación directa con *M. perniciosa*, logrando una supresión total del crecimiento micelial del hongo. Estos resultados son consistentes con los obtenidos por **Corrales (2012),** quien reportó que *B. subtilis* logró inhibir completamente el desarrollo de *Fusarium* spp. bajo condiciones similares de enfrentamiento.

En el caso específico de *T. virens*, se alcanzó una inhibición promedio de 22.33 mm del crecimiento de *M. perniciosa*, dato que guarda relación con los hallazgos de **Mortuza (1999)**,

quien observó que *T. harzianum* presentó la mayor capacidad inhibitoria contra *Lasiodiplodia theobromae* en pruebas *in vitro*, atribuida a la producción de metabolitos antifúngicos como la gliotoxina, los cuales son conocidos por interferir en el desarrollo de diversos fitopatógenos.

En cuanto al tratamiento con *Melaleuca alternifolia*, este mostró una inhibición total del crecimiento micelial de *M. perniciosa* en las condiciones evaluadas. Resultados similares fueron obtenidos por **Antonov (1997),** quien demostró que el aceite esencial del árbol del té, aplicado al 1 %, inhibía completamente la germinación de conidias y reducía en un 92 % el crecimiento del tubo germinativo de *Botrytis cinerea*. Asimismo, **Yu (2015)** explicó que el efecto antifúngico del aceite se debe principalmente a los terpenos terpinen-4-ol y 1.8-cineol, compuestos activos que alteran la integridad de la membrana celular y los organelos del hongo, provocando su desestabilización estructural y funcional.

6.2. Efecto de tres agentes y tres dosis (in vivo)

Tabla 5.

Análisis de varianza del efecto de tres agentes biológicos y tres dosis sobre Moniliophthora perniciosa perniciosa.

FUENTE DE VARIACIÓN	G.L.	S.C.	C.M.	F CALCULADO	Pr > F 0.05	
Tratamiento	11	434.3055	39.4823	44.16	<.0001	*
Bloques	2	0.0355	0.0177	0.02	0.9803	ns
Agentes biológicos	2	16.4422	8.2211	8.22	0.0013	*
Dosis	3	416.9722	138.9907	155.45	<.0001	*
Agentes biológicos*Dosis	6	0.8911	0.1485	0.17	0.9832	ns
Error	22	19.6711	0.8941			
Total	35	454.0122				
CV (%)	28.04					

Nota: Resultados del ANVA del octavo mes, correspondiente al análisis temporal de la enfermedad. CV = 28.04 %.

En el anexo 4, se muestra el conteo de brotes con hipertrofia por árbol de cacao, el análisis de variancia, se realizó con los datos promedios del último mes de evaluación (8vo mes, anexo 6), donde la fuente de variación a nivel de tratamientos (Tabla 7) es significativo a un nivel de significancia de 0.05, porque los agentes bilógicos tuvieron la capacidad de controlar a *Moniliohthora perniciosa* evitando la producción de basidiocarpos.

Las fuentes de variación a nivel de bloques son “no significativo” a un nivel de significancia de 0.05, es decir que, la recolección del número de brotes hipertrofiados fue igual en los tres bloques por lo tanto no existe significancia.

A nivel de agentes biológicos muestra que existe significancia a un nivel de 0.05, quiere decir que, los tres agentes biológicos lograron diferentes cantidades de brotes hipertrofiados.

La fuente de variación a nivel de dosis nos indica que existe una significancia a nivel de 0.05, quiere decir que, las dosis en estudio presentaron diferentes números de brotes hipertrofiados por lo tanto a mayor cantidad de dosis, será menor la producción de brotes con hipertrofia.

La interacción (Agente biológico*dosis), resulto “no significativo” a un nivel de significancia de 0.05, ya que el número de brotes hipertrofiados resulto ser similar a nivel de la interacción, es decir que, no influyeron en la epidemia de *Moniliophthora perniciosa.*

El coeficiente de variabilidad nos indica que los datos de la muestra son relativamente homogéneos. Por lo tanto, la media es representativa.

Tabla 6.

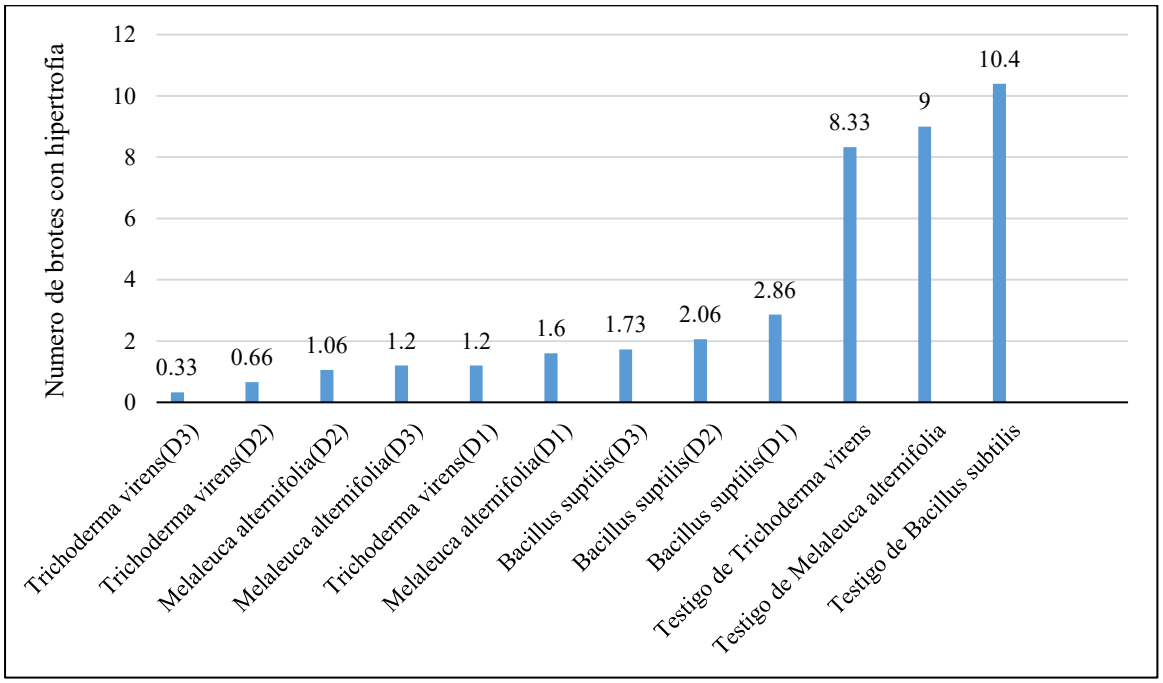
Prueba Tukey de tratamientos, del efecto de tres agentes biológicos y tres dosis de en el control Moniliophthora perniciosa.

Tratamiento				Nº De Brotes con hipertrofia	Agrupamiento	
3	*Trichoderma virens*	D3	Dosis alta (15 g/L)	0.33	a	
2	*Trichoderma virens*	D2	Dosis media (10 g/L)	0.66	a	
10	*Melaleuca alternifolia*	D2	Dosis media (5 ml/L)	1.06	a	
11	*Melaleuca alternifolia*	D3	Dosis alta (7 ml/L)	1.2	a	
1	*Trichoderma virens*	D1	Dosis baja (5 g/L)	1.2	a	
9	*Melaleuca alternifolia*	D1	Dosis baja (2.5 ml/L)	1.6	a	
7	*Bacillus subtilis*	D3	Dosis alta (15 ml/L)	1.73	a	
6	*Bacillus subtilis*	D2	Dosis media (10 ml/L)	2.06	a	
5	*Bacillus subtilis*	D1	Dosis baja (5 ml/L)	2.86	a	
4	*Trichoderma virens*	T		8.33		b
12	*Melaleuca alternifolia*	T		9		b
8	*Bacillus subtilis*	T		10.4		b

Nota: Resultados del octavo mes de evaluación, expresados como número promedio de brotes hipertrofiados por planta.

Figura 13.

Gráfico donde se observa la comparación de medias de los tratamientos



A nivel de tratamientos la comparación de medias por Tukey a un nivel de significancia del 0.05%, nos muestra un agrupamiento en dos grupos debido ya que la epidemia tratada con *Trichoderma virens* [Dosis alta (15 g/L)] logro un promedio de 0.33 brotes con hipertrofia en el octavo mes (abril 2024) de evaluación, en cambio al otro extremo, la epidemia del testigo presento un promedio de 10.40 brotes con hipertrofia. Quiere decir que, a mayor dosis, menor será el número de brotes hipertrofiados y Basidiocarpos.

Tabla 7.

Prueba Tukey del factor A y B, del efecto de tres agentes biológicos y tres dosis en el control de Moniliophthora perniciosa.

FACTORES	Nº DE BROTES CON HIPERTROFIA PROMEDIO	AGRUPAMIENTO	
Trichoderma virens	2.63	a	
Melaleuca alternifolia	3.21	a	
Bacillus subtilis	4.26		b
Dosis alta	1.08	a	
Dosis media	1.26	a	
Dosis baja	1.88	a	
Testigo	9.24		b

Nota: Resultados del octavo mes de evaluación, expresados como número promedio de brotes hipertrofiados por planta.

El análisis de comparación de medias por tukey a nivel de agentes biológicos muestra que *Trichoderma virens y Melaleuca alternifolia* lograron menor producción de brotes hipertrofiados a diferencia de *Bacillus suptilis,* quiere decir que *Trichoderma virens* es el mejor antagonista de *Moniliophthora perniciosa* a nivel de agentes biológicos y como segundo mejor agente biológico llega a ser *Melaleuca alternifolia.*

A nivel de Dosis, la dosis alta fue quien logro el menor número de brotes hipertrofiados a comparación con el testigo (Tabla 9), debido a que el N° de brotes con hipertrofia oscilo entre [(dosis alta = 1.08), (dosis media = 1.26), (dosis baja = 1.88), (testigo = 9.24)], quiere decir que la cantidad de inóculo de los agentes biológicos influye en la tasa de epidemia de *Moniliophthora perniciosa*, por tanto, a mayor inóculo de *Trichoderma virens,* habrá menor N° de brotes con hipertrofia.

6.2.1.1. Interacción de agentes biológicos con las dosis

Tabla 8.

Análisis de variancia del efecto de tres agentes biológicos y tres dosis en el control de Moniliophthora perniciosa.

INTERACCIONES	G.L.	S.C.	C.M.	F CALCULADO	Pr > F 0.05	
Trichoderma virens en dosis	3	131.1066	43.7022	48.88	<.0001	*
Bacillus subtilis en dosis	3	152.5066	50.8355	56.85	<.0001	*
Melaleuca alternifolia en dosis	3	134.25	44.7500	50.05	<.0001	*
Dosis baja en Agentes biológicos	2	4.54	2.2711	2.54	0.1017	ns
Dosis media en Agentes biológicos	2	3.12	1.5600	1.74	0.1980	ns
Dosis alta en Agentes biológicos	2	2.9955	1.4977	1.68	0.2103	ns
Testigo en Agentes biológicos	2	6.6755	3.3377	3.73	0.0402	*

Nota: Resultados del octavo mes; se observa ausencia de interacción significativa entre factores.

En el análisis de varianza a nivel de la interacción Agentes biológicos*Dosis de la (Tabla 7) muestra que no existe significancia ya que en la (figura 13) no existe interacción.

Figura 14.

Interacción entre Agentes biológicos y Dosis, donde no existe una interacción.

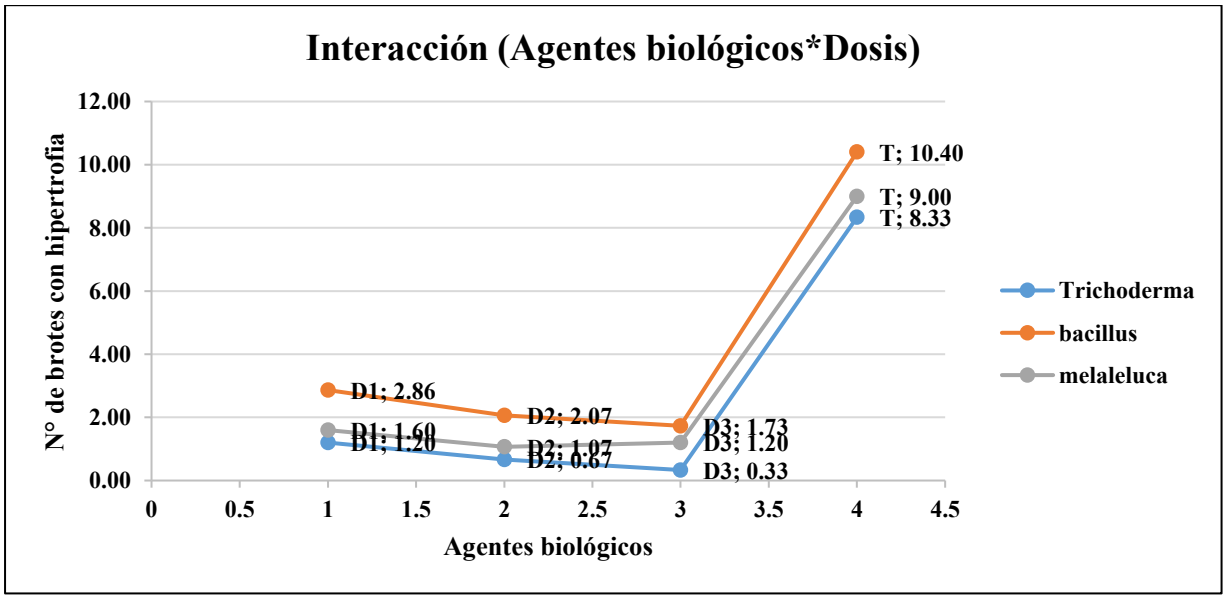


Gráfico donde se observan los tratamientos y el promedio del número de brotes con hipertrofia donde no existe una interacción entre agentes biológicos y dosis por lo tanto no existe significancia.

6.2.1.2. Área bajo la curva de progreso de la enfermedad.

Tabla 9.

Área bajo la curva del progreso de la enfermedad por mes, del efecto de tres agentes biológicos y tres dosis frente a Moniliophthora perniciosa.

Año 2023-2024	*Trichoderma virens*				*Bacillus subtilis*				Malaleuca alternifolia				Área Promedio de la enfermedad
	TD1	TD2	TD3	TT	BD1	BD2	BD3	BT	MD1	MD2	MD3	MT	
Septiembre	286	320	314	318	302	298	312	310	166	126	128	159	**253.25**
Octubre	210	218	211	299	259	225	239	303	262	192	194	316	223.33
Noviembre	119	101	93	265	201	137	151	281	177	117	117	299	134.77
Diciembre	87	74	64	251	154	107	118	263	139	89	85	285	101.88
Enero	58	49	44	262	100	79	84	279	100	76	73	287	73.66
Febrero	36	27	29	258	63	50	51	281	69	62	63	270	50
Marzo	46	34	30	262	82	63	58	303	66	55	57	276	54.55
Abril	51	35	25	265	101	77	67	327	63	47	51	285	57.44
Total	893	858	810	2180	1262	1036	1080	2347	1042	764	768	2177	948.88

Nota: Evolución mensual de *Moniliophthora perniciosa* durante ocho meses de evaluación.

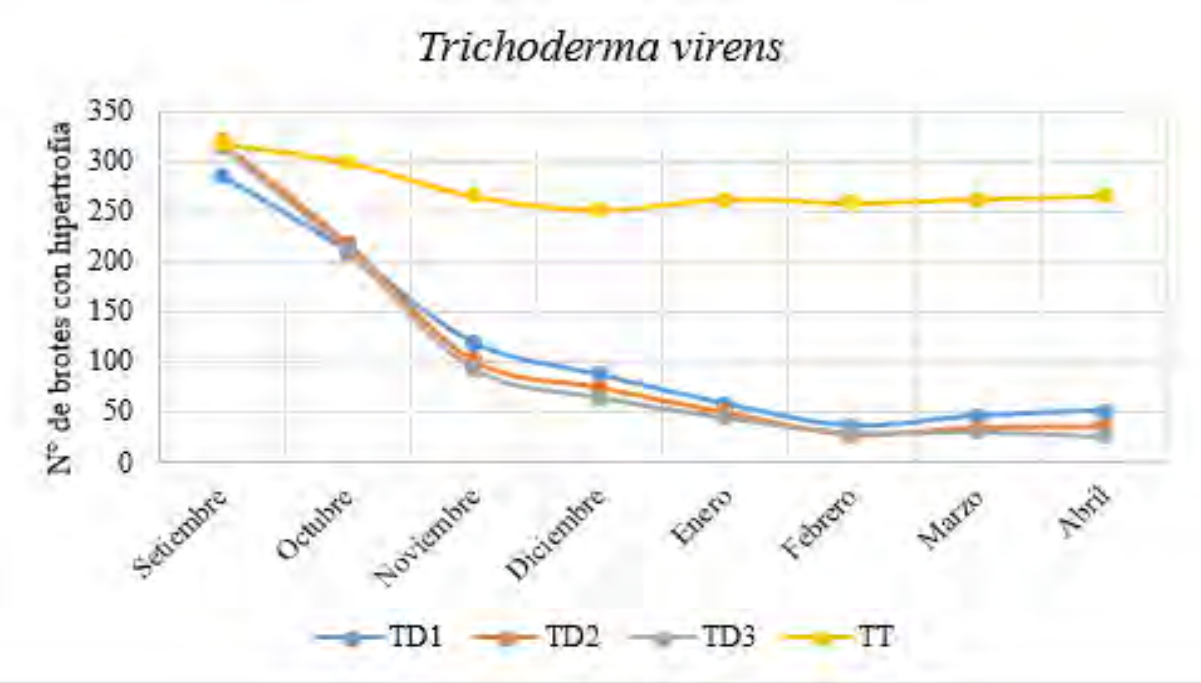
Las 12 epidemias iniciaron con un promedio de 253.25 de área bajo la curva del progreso de la enfermedad, el cual correspondía a la primera evaluación, transcurrido los ocho meses de control de *Moniliophthora perniciosa*, la curva del progreso de la enfermedad promedio disminuyo a 57.44, esto se debió a que los agentes biológicos inhibieron el inóculo secundario, por tanto, no se produce el inóculo primario (basidiocarpo), para lo cual se empleó la siguiente formula.

Formula Área bajo la curva de progreso de la enfermedad.

$$t2 - t1.(\frac{I2 + I1}{2})$$

Figura 15.

Efecto de Trichoderma virens, sobre el progreso de la enfermedad de Moniliophthora perniciosa "escoba de bruja", en ocho meses.

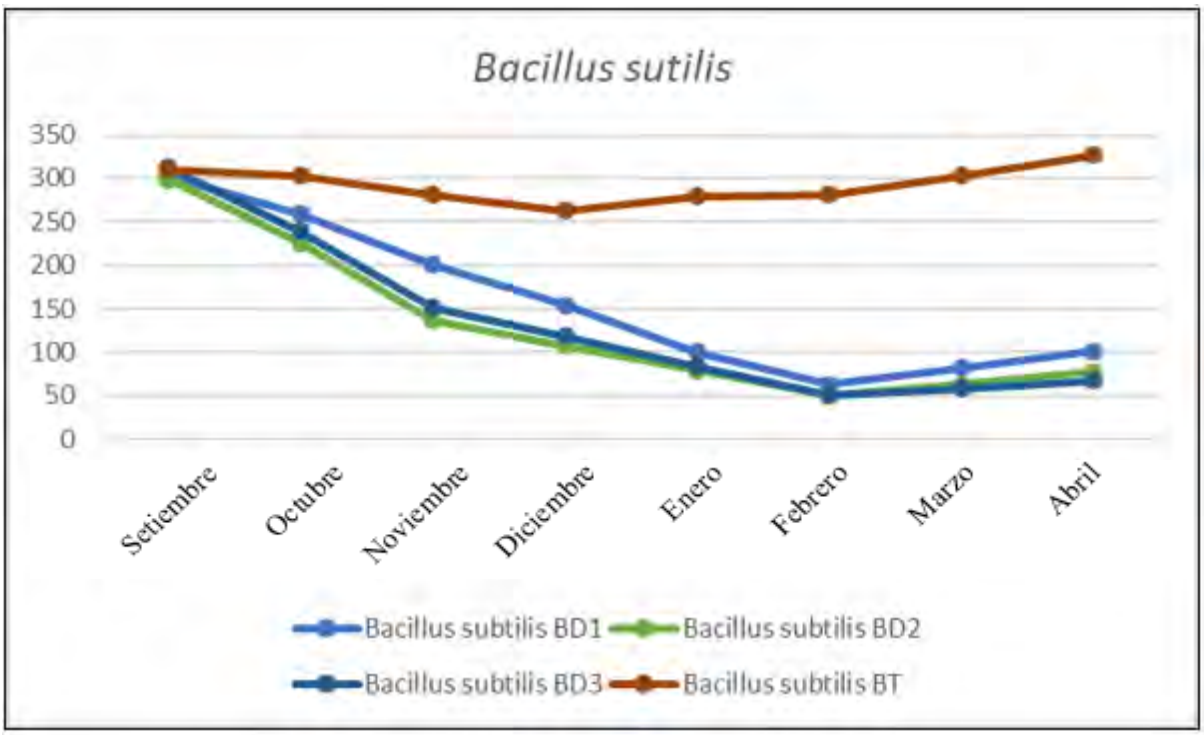


Progreso de la enfermedad (análisis temporal de la enfermedad en base a los tratamientos aplicados = estudio de epidemia), la diferencia entre el testigo y las dosis es amplia porque se ha iniciado con una alta tasa de la enfermedad, pasado los 8 meses de aplicación se logró reducir el inoculo inicial (basidiocarpos).

El área bajo la curva del progreso de la enfermedad evaluando el efecto de *Trichoderma virens* en el control de *Moniliophthora perniciosa*, demostró que el efecto antagónico reporto menos área ABCPE con 37 de área promedio de la enfermedad a los 8 meses, indicando tasas de infección bajas. Sosteniendo que a menor ABCPE se tiene una menor tasa de infección.

Figura 16.

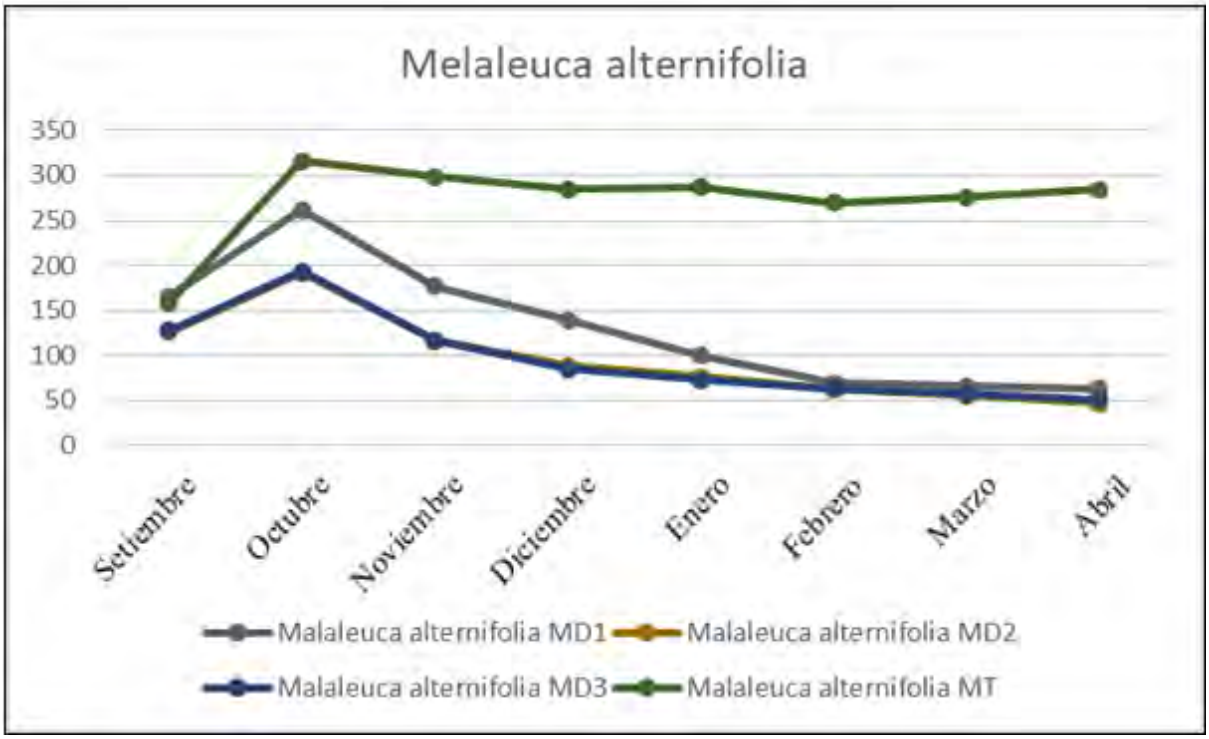
Efecto de Bacillus suptilis, sobre el progreso de la enfermedad de Moniliophthora perniciosa "escoba de bruja", en ocho meses.



El área bajo la curva del progreso de la enfermedad evaluando el efecto de *Bacillus subtilis* en el control de *Moniliophthora perniciosa*, demostró que el efecto antagónico reporto menos área ABCPE con 81.6 de área promedio de la enfermedad a los 8 meses, indicando tasas de infección bajas. Sosteniendo que a menor ABCPE se tiene una menor tasa de infección.

Figura 17.

Efecto de Melaleuca alternifolia, sobre el progreso de la enfermedad de Moniliophthora perniciosa "escoba de bruja", en ocho meses.



El área bajo la curva del progreso de la enfermedad evaluando el efecto de *Melaleuca alternifolia* en el control de *Moniliophthora perniciosa*, demostró que el efecto antagónico reporto menos área ABCPE con 53.6 de área promedio de la enfermedad a los 8 meses, indicando tasas de infección bajas. Sosteniendo que a menor ABCPE se tiene una menor tasa de infección.

Los resultados obtenidos en condiciones de *in vivo* indicaron que las dosis altas de los agentes biológicos evaluados fueron efectivas para reducir significativamente la progresión de la enfermedad causada por *Moniliophthora perniciosa*. Esta respuesta coincide con lo descrito por el **CATIE (2010),** donde se señala que el cultivo de cacao es altamente susceptible a la escoba de bruja. Asimismo, los hallazgos son coherentes con lo indicado por **Benito (2007),** quien, al evaluar cepas de *T. viride*, *T. harzianum* y *T. hamatum*, evidenció un comportamiento antagonista frente a *M. perniciosa*, tanto en ensayos *in vitro* como *in situ*. En este contexto, es

importante subrayar que el control biológico no busca la erradicación absoluta del patógeno, sino más bien la reducción de su población, lo cual conlleva a una disminución progresiva de la severidad de la enfermedad en campo.

En relación con el Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad (ABCPE), los valores obtenidos en esta investigación fueron comparables con los reportados por **Merchán (2017).** En su estudio sobre el efecto combinado de *Trichoderma viride* y *Bacillus subtilis* en el control de la escoba de bruja, Merchán determinó que los tratamientos con mayor actividad antagónica correspondieron a los que presentaron menores áreas ABCPE, alcanzando incluso registros de 60 unidades. Esta tendencia sugiere que, a menor área bajo la curva, se observa una menor tasa de infección y, por tanto, una mayor efectividad del tratamiento aplicado.

En conjunto, los resultados de esta investigación confirman que el uso de agentes biológicos, especialmente en dosis altas, representa una alternativa viable y sostenible para el manejo integrado de *Moniliophthora perniciosa*, tanto en condiciones de laboratorio como en parcelas productivas, contribuyendo al fortalecimiento de estrategias de control ecológicamente responsables y técnicamente efectivas en el cultivo de cacao.

VII. CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

7.1. Conclusiones

El presente estudio, desarrollado en condiones *in vitro* e *in vivo*; en La Convención, permitió evaluar el efecto de tres agentes biológicos aplicados en tres dosis, frente al patógeno *Moniliophthora perniciosa* arribándose a las siguientes conclusiones:

1. **Efecto *in vitro***

   Al realizar la prueba de eficacia "in vitro" el tratamiento testigo cubrió la superficie del medio en 7 días (83 mm) en cambio los agentes biológicos ejercieron una marcada acción antagónica frente al crecimiento micelial de *Moniliophthora perniciosa*. *Melaleuca alternifolia* (2.5, 5 y 7 ml/L) y *Bacillus subtilis* inhibieron completamente (100 %) el desarrollo del patógeno, mientras que *Trichoderma virens* redujo su crecimiento a 22.33 mm frente a 40.66 mm del testigo. Estos resultados demuestran la eficacia de los agentes biológicos, atribuida a su acción por micoparasitismo, competencia, antibiosis y liberación de compuestos antifúngicos.

2. **Efecto *in vivo***

   La epidemia fumigada con *Trichoderma virens*, a dosis alta (15 g/L), inicio con 10.47 brotes con hipertrofia de inóculo inicial, y a ocho meses de control, pudo reducir el inóculo secundario a 0.33. Seguido por *Melaleuca alternifolia* a dosis media (5 ml/L), inicio con 8.40 brotes con hipertrofia de inóculo inicial, y a ocho meses de control, pudo reducir el inóculo secundario a 1.07. Finalmente, *Bacillus subtilis* a dosis alta (15 ml/L), inicio con 10.40 brotes con hipertrofia de inóculo inicial, y a ocho meses de control, pudo reducir el inóculo secundario a 1.73. Estos resultados demuestran que los agentes biológicos evaluados constituyen herramientas efectivas dentro de los programas de manejo integrado de la escoba de bruja, representando alternativas sostenibles, ecológicamente seguras y adaptadas a las condiciones agroecológicas de la provincia de La Convención.

7.2. Sugerencias

1. Se recomienda emplear *Trichoderma virens* en dosis de 15 g/L como agente biológico principal para el control de la escoba de bruja del cacao, debido a su elevada eficacia en la reducción del número de brotes hipertrofiados y en el control del progreso temporal de la enfermedad bajo condiciones de campo.
2. Se sugiere el uso complementario de extractos naturales de *Melaleuca alternifolia* en dosis de 5 ml/L, por su comprobada capacidad inhibitoria *in vitro* y su efecto positivo en la reducción del ABCPE, lo que la convierte en una alternativa viable para sistemas de producción agroecológica y sostenible.
3. Se recomienda ampliar las evaluaciones experimentales en distintos pisos altitudinales y zonas agroecológicas de la provincia de La Convención y del VRAEM, con el fin de validar la consistencia de los resultados y establecer protocolos técnicos adaptados a cada condición ambiental.
4. Se propone incorporar los resultados de esta investigación en los programas regionales de manejo fitosanitario del cacao, promoviendo el uso de agentes biológicos como parte de estrategias de manejo integrado, sostenibles y ambientalmente responsables, que reduzcan la dependencia de fungicidas químicos.
5. Se sugiere continuar con investigaciones complementarias que profundicen en los mecanismos fisiológicos y moleculares de antagonismo de *Trichoderma virens*, *Bacillus subtilis* y *Melaleuca alternifolia* frente a *Moniliophthora perniciosa*, a fin de optimizar su formulación, persistencia y eficacia en condiciones tropicales de campo.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

Acosta, S., & Villa, J. (2016). Evaluación de *Trichoderma spp.* como control biológico en una plantación a pequeña escala de cacao. *Revista de Agricultura y Ciencias Ambientales*, 5(2), 1–11. http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1750/1/1183-4059-1-PB.pdf

AgroKlinge S.A. (2022). *Ficha técnica: Timorex Gold® – Fungicida biológico de amplio espectro (extracto de Melaleuca alternifolia).* Lima, Perú: AgroKlinge S.A.

Antonov, A. (1997). *Inhibición de la germinación de conidios y crecimiento micelial de Botrytis cinerea mediante productos naturales*. Control Biológico. Wellington, Nueva Zelanda.

Baker KF, Cook RJ (1974) *Biological Control of Plant Pathogens*. Freeman. San Francisco, CA, EEUU. 432 pp.

Benito, J. (1992). *Tecnificación del cacao en la selva alta peruana*. FUNDEAGRO. Lima, Perú.

Benito, J. (2007). Manejo integrado del cacao para el control de enfermedades con énfasis en *Moniliophthora perniciosa*. En *Memorias del Foro Binacional ICTINIA: Situación actual y perspectivas de investigación en cacao (Theobroma cacao L.) en el Perú* (pp. 1–39). APP Cacao / Proyecto INIA–ICT. Lima, Perú.

Bliss, C. I. (1934). The method of probits. *Science, 79*(2037), 38–39. https://doi.org/10.1126/science.79.2037.38

Bonilla, G. (2006). *Descripción general de los mecanismos y usos de Trichoderma spp.* [Tesis de maestría, Universidad Federal da Bahía]. Salvador, Brasil.

Bowers, J., Bailey, B., Hebbar, P., Sanogo, S., & Lumsden, R. (2001). *The impact of plant diseases on world chocolate production. Plant Health Progress,* 2, 58–61.

Bowers, J., Bailey, B., Hebbar, P., Sanogo, S., & Lumsden, R. D. (2001). The impact of plant diseases on world chocolate production. *Plant Health Progress*, 2(1), 12. https://doi.org/10.1094/PHP-2001-0709-01-RV

CAB International. (2018). *Moniliophthora perniciosa (witches' broom disease of cacao). Crop Protection Compendium.* CAB International, United Kingdom. Recuperado de https://www.cabi.org/isc/datasheet/16054

CABI. (2016). *Crop Protection Compendium* (7th ed.). CAB International. Wallingford, Reino Unido.

Camargo, M. (2012). Effects of *Bacillus subtilis* in the dynamics of infiltration of immunological cells in the intestinal mucosa of chickens challenged with *Salmonella Minnesota*. *International Journal of Poultry Science*, 11(10), 630–634.

Carneiro, D. (2015). *Escoba de bruja.* Recuperado de https://redcacaoychocolateperu.blogspot.com/2015/10/Escoba-de-brujas-wbd.html

Carson, C. F., & Riley, T. V. (1995). *Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of Melaleuca alternifolia.* Journal of Applied Bacteriology, 78(3), 264–269. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1995.tb05025.x

CATIE. (2010). *El cacao y el Proyecto Cacao de Centroamérica (PCC)*. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Turrialba, Costa Rica.

Chávez, N., Méndez, A., Nancy, A., & Alvarado, P. (2007). *Utilización de bacterias y hongos endófitos para el control biológico de nematodos barrenador Radopholus similis Cobb Thorn* [Tesis de maestría, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza]. Turrialba, Costa Rica.

Cochrane. (2013). *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions* (version 5.1.0). The Cochrane Collaboration. https://handbook-5-1.cochrane.org

Corrales, L. (2012). *Efecto biocontrolador de Bacillus subtilis frente a Fusarium sp. bajo condiciones de invernadero en plantas de tomillo (Thymus vulgaris L.)* [Tesis de maestría, Colegio de Postgraduados]. Montecillo, México.

Cronquist, A. (1986). *Introducción a la botánica* (2.ª ed.). Ciudad de México, México: Editorial Continental.

Díaz-Valderrama, J., Leiva-Espinoza, S., & Aime, C. A. (2020). The history of cacao and its diseases in the Americas. *Phytopathology*, 110(10), 1604–1619. https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-20-0178-RVW

Durán, E. (2007). Sensibilidad *in vitro* de cepas de *Trichoderma* aisladas de semillas de soya frente al fungicida MAXIMO XL. *Boletín Micológico*, (51), 51–54. Santiago, Chile.

Evans, H. C., & Barreto, R. W. (1996). *Crinipellis perniciosa: A much investigated but little understood fungus. Mycologist,* 10, 58–61.

Fernández, L. (2018). *Epidemiología de escoba de bruja (Moniliophthora perniciosa) en accesiones de cacao (Theobroma cacao L.) silvestre colectadas en la cuenca del alto Amazonas* [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional de San Martín]. Tarapoto, Perú. http://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/2873

Fernández, O. (1992). *Metodología de reproducción de cepas de Trichoderma spp. para el biocontrol de hongos fitopatógenos*. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV). La Habana, Cuba.

Food and Agriculture Organization (FAO). (2001). *Glossary of phytosanitary terms (ISPM No. 5)*. Rome: Secretariat of the International Plant Protection Convention (IPPC). https://www.fao.org/plant-treaty

French, E. R. (1980). *Métodos de investigación fitopatológica*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). San José, Costa Rica.

García, L. (2000). *Recursos genéticos y mejoramiento de cultivo de cacao*. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María, Perú.

Global Biodiversity Information Facility. (2023). *Bacillus subtilis* (Ehrenberg 1835) Cohn 1872. En *Taxonomía troncal de GBIF: Conjunto de datos de la lista de especies.* https://doi.org/10.15468/39omei

Global Biodiversity Information Facility. (2023). *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel. En *Taxonomía troncal de GBIF: Conjunto de datos de la lista de especies.* https://doi.org/10.15468/39omei

Global Biodiversity Information Facility. (2023). *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora. En *Taxonomía troncal de GBIF: Conjunto de datos de la lista de especies*. https://doi.org/10.15468/39omei

Global Biodiversity Information Facility. (2023). *Trichoderma virens* (J.H. Miller, Giddens & A.A. Foster) Arx. En *Taxonomía troncal de GBIF: Conjunto de datos de la lista de especies.* https://doi.org/10.15468/39omei

Gómez Ramírez, H. (2014). *Trichoderma virens Miller Cepa SCB-LA109 [Ficha técnica N.º 12]*. Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), Lima, Perú. http://repositorio.senasa.gob.pe/handle/SENASA/260

González León, Y., Ortega-Bernal, J., Anducho-Reyes, M. A., & Mercado-Flores, Y. (2022). *Bacillus subtilis* y *Trichoderma*: características generales y su aplicación en la agricultura. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 25, e520. https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.520

Guzmán Guerrero, G. de L. (2024). *Influencia de estrategias de manejo para escoba de bruja (Moniliophthora perniciosa) patógeno foliar en cacao (Theobroma cacao L.), Naranjal Guayas* [Tesis de pregrado, Universidad Agraria del Ecuador]. Guayaquil, Ecuador.

Haidar, R., Fermaud, M., Calvo-Garrido, C., Roudet, J., & Lorenzini, F. (2016). Modes of action for biological control of fungal pathogens. *Frontiers in Plant Science, 7*, 1383. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01383

Huaman Pampañaupa, J. S. (2025). *Eficacia de fungicidas en el control de escoba de bruja (Moniliophthora perniciosa) en condiciones in vitro y campo, en cacao blanco (Theobroma cacao L.), en Echarate - La Convención – Cusco*. Tesis de pregrado, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

Infante, D., Martínez, B., González, N., Reyes, Y., & Peteira, B. (2009). Mecanismos de acción de Trichoderma frente a hongos fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal*, 24(1), 14-21.

INIA. (2008). *Escoba de bruja del cacao en Venezuela: Aspectos fitosanitarios*. Centro de Investigaciones del Estado Miranda. Caracas, Venezuela.

International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). (1997). *Compendium of chemical terminology (Gold Book)*. Oxford: Blackwell Scientific Publications. https://doi.org/10.1351/goldbook

Köhl, J., Kolnaar, R., & Ravensberg, W. J. (2025). Microbial biological control agents: Principles and application in plant disease management. *Frontiers in Plant Science, 12*, 845. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00845

León, J. (1968). *Fundamentos botánicos de los cultivos tropicales* (pp. 375–384). Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). San José, Costa Rica.

León, M. (2009). *Trichoderma*. Editorial Tenorio. Cali, Colombia.

Lisboa, M. (2003). *Efectividad de Bacillus subtilis y de una cepa nativa de Trichoderma harzianum sobre la incidencia y severidad de pudrición gris* [Tesis de licenciatura, Universidad de Talca]. Talca, Chile.

Macas, R. (1994). *Estudio y estima de Trichoderma spp. en treinta y siete unidades de producción de la parroquia Cajabamba, cantón Colta, Provincia de Chimborazo* [Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo – ESPOCH]. Riobamba, Ecuador.

Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). *Trichoderma spp.* y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*, 28(1), 1–11.

Meinhardt, L. W., Rincones, J., Bailey, B. A., Aime, M. C., Griffith, G. W., Zhang, D., & Pereira, G. A. G. (2008). *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease of cacao: What's new from this old foe? *Molecular Plant Pathology*, 9(5), 577–588. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2008.00496.x

Merchán, J. (2017). Efecto de dos cepas de *Trichoderma* en el control de *Moniliophthora perniciosa* y la calidad del fruto de cacao (*Theobroma cacao L.*). *Revista Colombiana de Ciencias Agrarias*, 8(1), 44–56.

Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (MIDAGRI). (2020). *Observatorio de commodities 2020 – Boletín trimestral (octubre–diciembre)*. Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego. https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/1026014/Commodities_arroz_abrjun_2020.pdf

Mortuza, M. (1999). *Potencial de biocontrol de Lasiodiplodia theobromae (Pat.) Griff. & Maubl. por especies de Trichoderma en frutos de plátano*. Boletín de Control Biológico. Morelos, México.

National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2023). *In vitro vs. in vivo studies – definitions and differences*. Bethesda, MD: U.S. National Library of Medicine. https://www.ncbi.nlm.nih.gov

Olsen, C. (1991). *Aceite de árbol de té*. Fitopatología Tropical. Almería, España.

Papavisa, G. (1985). *Trichoderma and Gliocladium: Biology, ecology, and potential for biocontrol*. *Annual Review of Phytopathology*, 23, 54.

Parra, D., Contreras, I., & Pineda, J. (2008). *Escoba de bruja del cacao en Venezuela.* Centro de Investigaciones del Estado Miranda (INIA). Venezuela.

Pedraza, L. A., López, C. E., & Uribe Vélez, D. (2020). Mecanismos de acción de *Bacillus spp.* (Bacillaceae) contra microorganismos fitopatógenos durante su interacción con plantas. *Acta Biológica Colombiana*, 25(1), 112–125.

Perdomo Vela, S. (2014). *Control químico y biológico de las principales enfermedades en el cultivo de cacao (Theobroma cacao L.) en el sector Jacintillo, provincia de Leoncio Prado* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria de la Selva]. Tingo María, Perú.

Perdomo, S. (2014). *Control químico y biológico de las principales enfermedades en el cultivo de cacao (Theobroma cacao L.) en el sector Jacintillo, provincia de Leoncio Prado* [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Agraria de la Selva]. Tingo María, Perú.

Ploetz, R. C. (2016). The impact of diseases on cacao production: A global overview. En R. C. Ploetz (Ed.), *Cacao diseases* (pp. 33–59). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24789-2

Porras, V. H., & Sánchez, L. J. (1991). *Enfermedades del cacao* (Serie Tecnología, Comunicación y Desarrollo. Fascículo No. 5). Fundación Hondureña de Investigación Agrícola & Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. La Lima, Honduras.

Ramos Carrasco, T. A. (2022). *Diversidad genética de escoba de bruja (Moniliophthora perniciosa) en el agroecosistema cacao de la provincia de Bagua, Región Amazonas* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas]. Chachapoyas, Perú.

Reuven, M. (2019). *Eficacia de aceite esencial de Melaleuca alternifolia en cultivo de pepino*. Editorial Universal. Almería, España.

SENASICA – Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. (2013). *Escoba de bruja del cacao: Moniliophthora perniciosa* (Ficha Técnica No. 4). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Ciudad de México, México. https://www.ruta.org/CDOC-Deployment/documentos/FTNo4Escoba_de_bruja.pdf

Silva, L. (2003). *Métodos biológicos*. Sistema de Integración Centroamericana – SICA. Bucaramanga, Colombia.

Silva, P. (1987). *Escoba de bruja del cacao* (Boletín Técnico No. 146). Belo Horizonte, Brasil.

Simko, I., & Piepho, H. P. (2012). The area under the disease progress stairs: Calculation, advantage, and application. *Phytopathology, 102*(4), 381–389. https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-11-0216

Sipcam Agro S.A. (2019). *Ficha técnica: Timorex Gold® – Biofungicida natural de amplio espectro.* Barcelona, España: Sipcam.

Sistema Integrado de Información Taxonómica [ITIS]. (2024). *Sistema Integrado de Información Taxonómica del Gobierno de los Estados Unidos*. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=117472

Stockton. (2010). *Timorex Gold®.* Grupo Stockton, Israel. Recuperado de http://unicesar.ambientalex.info/infoCT/Conco_msignegnuegenbioint.pdf

Villamil Carvajal, J. E., Viteri Rosero, S. E., & Villegas Orozco, W. L. (2015). Aplicación de antagonistas microbianos para el control biológico de *Moniliophthora roreri* Cif & Par en *Theobroma cacao* L. bajo condiciones de campo. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín, 68*(1), 7441–7450. https://doi.org/10.15446/rfnam.v68n1.47830

Villamil Carvajal, J. E., Viteri Rosero, S. E., & Villegas Orozco, W. L. (2015). *Aplicación de antagonistas microbianos para el control biológico de Moniliophthora roreri Cif & Par en Theobroma cacao L. bajo condiciones de campo*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 68(1), 7441–7450. http://dx.doi.org/10.15446/rfnam.v68n1.47830

Villarreal, M., Villa, E., Cira, L., & Estrada, M. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(1), 1–10.

World Health Organization (WHO). (2009). *Evaluation of the effectiveness of interventions*. Geneva: World Health Organization. https://www.who.int

Yu, D. (2015). Modos de acción antifúngicos del aceite de árbol de té y sus dos componentes característicos contra *Botrytis cinerea*. *Revista de Microbiología Aplicada*, La Habana, Cuba.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Los datos meteorológicos de setiembre 2022 a setiembre del 2023

Figura 18.

Curva de variación de temperatura (ºC). Datos proporcionados por Universidad Nacional Intercultural de Quillabamba

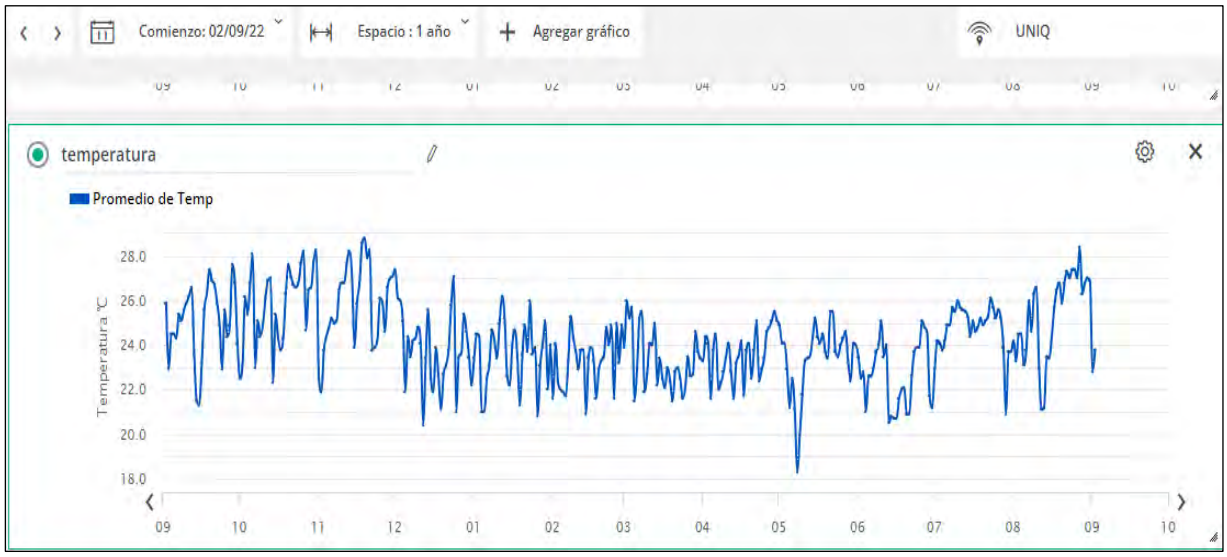


Figura 19.

Curva de variación de lluvia. Datos proporcionados por Universidad Nacional Intercultural de Quillabamba.

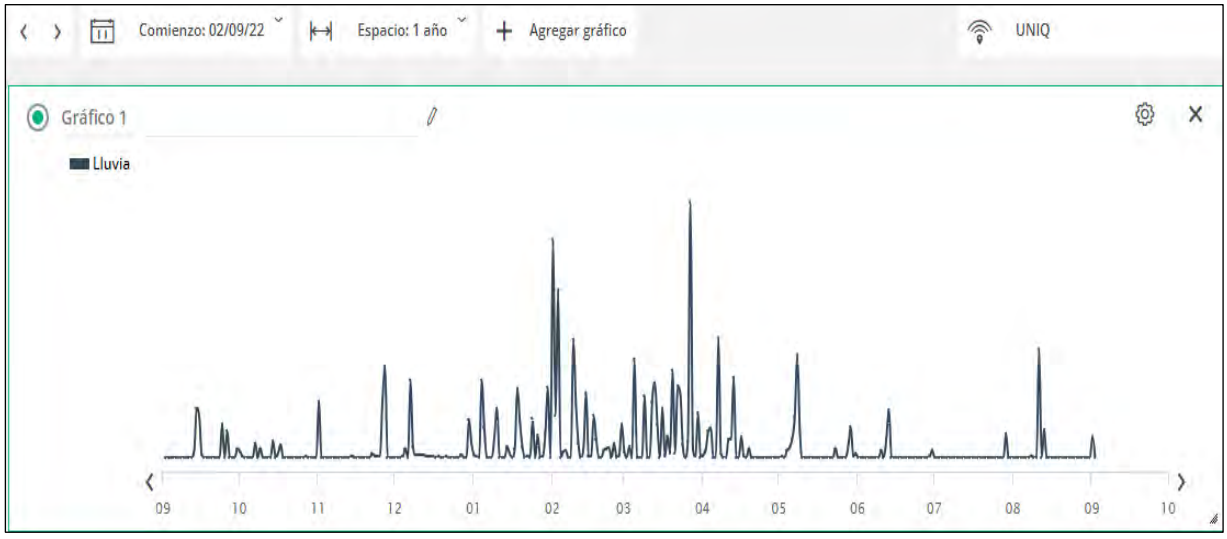
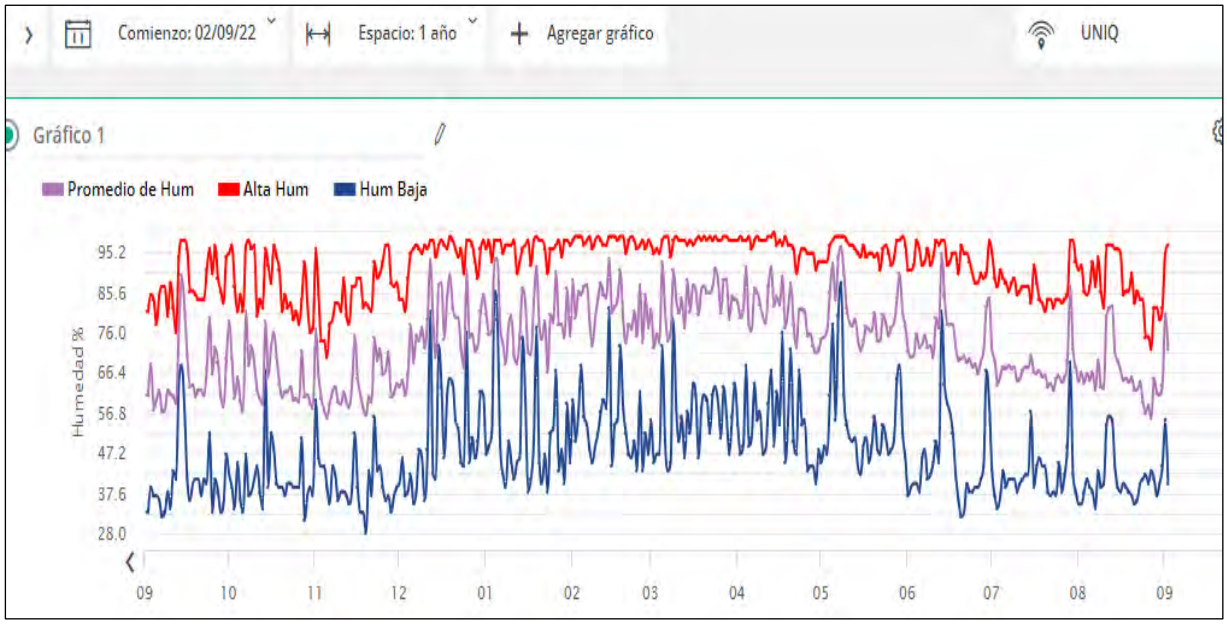


Figura 20.

Curva de variación de humedad relativa (%). Datos proporcionados por Universidad Nacional Intercultural de Quillabamba



Anexo 2.

Medición del radio de crecimiento micelial (mm) del enfrentamiento de Trichoderma spp frente a Moniliophthora perniciosa en la prueba in vitro

Tratamiento		Radio de crecimiento micelial (mm)																																	
Horas después siembra		24						48						72						96						120						144					
Placas petri		P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6
TVx MP	TV	8	7	6	9	8	6	14	16	18	15	16	16	24	25	24	22	26	25	30	34	32	34	33	32	34	44	41	44	42	40	45	48	50	49	48	48	60	59	62	60	60	63
	MP	3	4	2	3	4	2	6	8	5	4	6	5	9	10	8	9	10	9	14	12	13	12	11	12	16	16	14	15	16	15	18	17	19	18	17	18	23	24	21	23	23	20
TxMP	T	5	4	6	4	5	4	8	10	9	7	8	7	14	12	11	12	13	14	16	18	15	16	15	16	22	20	21	20	18	20	23	24	23	24	23	23	25	23	27	24	25	27
	MP	6	7	8	7	6	8	15	14	16	14	15	14	23	21	22	22	21	23	30	28	26	27	26	28	36	36	35	34	35	34	40	42	44	42	43	42	58	60	56	59	58	56
TVxTV	TV	7	6	7	5	6	7	11	12	12	13	11	12	18	17	18	16	18	19	25	26	24	25	24	23	30	33	31	32	28	30	34	36	35	37	35	41	41	42	42	41	40	42
	TV	8	7	6	7	6	4	10	11	13	12	12	11	17	16	19	16	17	18	24	25	23	26	25	22	32	31	32	33	30	30	35	36	36	35	36	42	42	41	41	42	43	41
MPxMP	MP	4	5	3	5	4	3	6	8	7	6	8	7	10	12	11	13	11	12	18	16	15	17	16	15	22	20	21	22	21	22	25	27	24	23	24	26	33	32	34	30	33	34
	MP	3	4	4	4	5	4	5	6	8	7	8	8	11	13	12	12	12	13	17	18	17	18	19	18	20	22	21	20	22	22	26	26	25	27	24	24	30	33	33	32	32	33

TV: *Trichoderma virens* MP: *Moniliophthora perniciosa* T: *Trichoderma* sp Diámetro de placa petri: 83 mm

Anexo 3.

Medición del diámetro de crecimiento micelial (mm) del Enfrentamiento de Bacillus subtilis frente a Moniliophthora perniciosa y medio envenenado con Melaleuca alternifolia para Moniliophthora perniciosa en la prueba in vitro

Tratamiento			Diámetro de crecimiento micelial (mm)																																	
Horas después siembra			24						48						72						96						120						144					
Placas petri			P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6
Melaleuca alternifolia	2.5 ml/L	AB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		CD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5 ml/L	AB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		CD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7 ml/L	AB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		CD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bacillus subtilis		AB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		CD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Testigo		AB	10	12	13	11	12	11	24	20	22	23	25	24	35	36	33	36	37	36	46	48	45	44	48	46	61	63	62	60	62	60	72	74	71	70	72	72	83	83	83	83	83	83
		CD	12	10	11	12	13	11	25	22	23	24	24	23	34	35	35	34	33	35	48	46	47	48	46	44	60	62	63	60	61	60	70	71	70	72	70	71	83	83	83	83	83	83

Anexo 4.

Promedio de medición del diámetro de crecimiento micelial (mm) del Enfrentamiento de Bacillus subtilis frente a Moniliophthora perniciosa y medio envenenado con Melaleuca alternifolia para Moniliophthora perniciosa.

Tratamiento		Diámetro de crecimiento micelial (mm)																																	
horas después siembra		24						48						72						96						120						144					
Placas petri		P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6
Melaleuca alternifolia	2.5 ml/L	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5 ml/L	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7 ml/L	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bacillus subtilis		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Testigo		11	11	12	11.5	12.5	11	24.5	21	22.5	23.5	24.5	23.5	34.5	35.5	34	35	35	35.5	47	47	46	46	47	45	60.5	62.5	62.5	60	61.5	60	71	72.5	70.5	71	71	71.5
		83	83	83	83	83	83																														

Anexo 5.

Efecto de tres agentes biológicos y tres dosis en el análisis temporal de la epidemiología de Moniliophthora perniciosa en la fase de campo

Factor A	Factor B	BLOQUE I																																	
		Set-23					Oct-23					Nov-23					Dic-23					Ene-24					Feb-24					Mar-24					Abr-24				
		N° de brotes con hipertrofia por árbol de cacao																																			
N° de arboles		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Trichoderma virens	D1	7	5	7	6	8	5	2	3	4	3	4	1	2	3	2	3	0	1	2	1	1	2	2	2	1	1	1	1	0	0	2	1	1	1	3	1	0	0	0	2
	D2	9	8	10	12	14	2	1	2	1	2	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	2	1	0	1	1	0	0	2	1	1	1	2	1	0	0	0	1
	D3	8	17	19	8	10	2	1	2	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3	3	2	0	2	2	1	0	1	1	1	1	2	0	0	0	0	1
	T	11	9	11	8	10	11	8	9	10	12	10	7	8	9	11	9	6	7	8	10	8	10	13	13	12	9	12	12	11	8	10	13	9	12	10	9	12	8	11	9
Basillus subtilis	D1	10	9	11	11	13	5	4	5	4	6	4	3	4	3	5	3	2	3	2	4	3	2	2	2	1	1	1	1	0	0	6	3	5	2	3	5	2	4	1	2
	D2	9	14	16	3	5	3	3	4	2	4	2	2	3	1	3	1	1	2	0	2	2	2	3	3	2	1	2	2	1	0	4	2	3	1	3	3	1	2	0	2
	D3	7	10	12	9	11	3	3	4	2	4	2	2	3	1	3	1	1	2	0	2	4	2	2	2	1	1	1	1	0	0	4	5	3	4	2	3	4	2	3	1
	T	9	12	14	8	10	8	11	12	7	13	7	10	11	6	12	6	9	10	5	11	9	8	13	13	12	7	12	12	11	6	12	14	11	13	10	11	13	10	12	9
Melaleuca alternifolia	D1	10	15	17	9	11	4	1	2	3	2	3	0	1	2	1	2	0	0	1	0	2	2	1	1	0	1	0	0	0	0	1	2	1	1	1	0	1	0	0	0
	D2	8	7	9	4	6	2	3	4	1	1	1	2	3	0	0	0	1	2	0	0	0	1	3	3	2	0	2	2	1	0	3	1	2	1	3	2	0	1	0	2
	D3	14	5	7	4	6	4	3	4	3	2	3	2	3	2	1	2	1	2	1	0	2	1	2	2	1	0	1	1	0	0	2	3	1	2	3	1	2	0	1	2
	T	9	12	14	6	8	9	11	12	8	14	8	10	11	7	13	7	9	10	6	12	9	7	11	11	10	6	10	10	9	5	11	8	10	7	13	10	7	9	6	12

Factor A	Factor B	BLOQUE II																																					
		Set-23					Oct-23					Nov-23					Dic-23					Ene-24					Feb-24					Mar-24					Abr-24				
		N° de brotes con hipertrofia por árbol de cacao																																					
N° de arboles		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Trichoderma virens	D1	9	12	14	8	13	8	5	7	6	4	7	4	6	5	3	6	3	5	4	2	0	3	5	0	4	0	2	4	0	3	4	2	2	3	3	3	1	1	2	2
	D2	12	10	12	11	11	5	4	4	11	9	4	3	3	10	8	3	2	2	9	7	1	4	3	0	2	0	3	2	0	1	3	3	1	2	1	2	2	0	1	0
	D3	7	10	13	6	12	4	5	3	9	7	3	4	2	8	6	2	3	1	7	5	1	0	4	0	3	0	0	3	0	2	1	3	1	1	1	0	2	0	0	0
	T	14	12	10	13	9	11	12	10	13	11	10	11	9	12	10	9	10	8	11	9	8	8	12	7	11	7	7	11	6	10	11	13	8	10	9	10	12	7	9	8
Basillus subtilis	D1	9	7	12	8	11	10	7	9	11	9	9	6	8	10	8	8	5	7	9	7	7	3	4	6	3	6	2	3	5	2	6	3	3	5	4	5	2	2	4	3
	D2	13	10	8	12	7	6	9	5	9	7	5	8	4	8	6	4	7	3	7	5	4	2	2	3	1	3	1	1	2	0	4	3	1	3	2	3	2	0	2	1
	D3	11	14	10	10	9	8	8	7	11	9	7	7	6	10	8	6	6	5	9	7	3	3	5	2	4	2	2	4	1	3	3	2	1	2	2	2	1	0	1	1
	T	10	7	13	9	12	10	12	9	12	10	9	11	8	11	9	8	10	7	10	8	9	9	14	8	13	8	8	13	7	12	12	13	7	11	8	11	12	6	10	7
Melaleuca alternifolia	D1	10	12	10	9	9	8	10	7	11	9	7	9	6	10	8	6	8	5	9	7	4	7	4	3	3	3	6	3	2	2	3	5	4	2	5	2	4	3	1	4
	D2	11	8	6	10	5	5	3	4	11	9	4	2	3	10	8	3	1	2	9	7	6	3	4	5	3	5	2	3	4	2	2	5	1	1	1	1	4	0	0	0
	D3	7	9	12	6	11	4	7	3	7	5	3	6	2	6	4	2	5	1	5	3	6	4	5	5	4	5	3	4	4	3	4	1	2	3	3	3	0	1	2	2
	T	12	14	12	11	11	11	12	10	13	11	10	11	9	12	10	9	10	8	11	9	8	7	14	7	13	7	6	13	6	12	10	12	7	9	8	9	11	6	8	7

Factor A	Factor B	BLOQUE III																																					
		Set-23					Oct-23					Nov-23					Dic-23					Ene-24					Feb-24					Mar-24					Abr-24				
		N° de brotes con hipertrofia por árbol de cacao																																					
N° de arboles		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Trichoderma virens	D1	11	10	11	14	8	4	3	7	5	1	3	2	6	4	0	3	1	2	1	1	2	0	1	0	0	1	0	0	0	0	3	2	1	4	1	2	1	0	3	0
	D2	7	11	7	12	14	3	1	4	3	6	2	0	3	2	5	1	1	3	1	2	0	0	2	0	1	0	0	1	0	0	1	3	1	2	1	0	2	0	1	0
	D3	10	9	9	7	12	5	3	4	5	2	4	2	3	4	1	2	1	2	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2	2	0	0	0	1	1
	T	11	10	14	10	7	5	9	5	7	7	4	8	4	6	6	7	9	8	8	7	6	8	7	7	6	5	7	6	6	5	6	5	8	7	9	5	4	7	6	8
Basillus subtilis	D1	7	14	11	8	10	3	10	14	7	4	2	9	13	6	3	1	4	2	3	1	0	3	1	2	0	0	2	0	1	0	3	2	4	4	5	2	1	3	3	4
	D2	9	11	13	11	8	5	8	3	4	4	4	7	2	3	3	2	3	4	2	3	1	2	3	1	2	0	1	2	0	1	5	2	3	6	4	4	1	2	5	3
	D3	14	10	9	9	11	7	3	5	4	5	6	2	4	3	4	3	2	3	1	2	2	1	2	0	1	1	0	1	0	0	2	1	3	3	4	1	0	2	2	3
	T	11	9	10	14	7	9	11	5	5	14	8	10	4	4	13	8	8	12	7	11	7	7	11	6	10	6	6	10	5	9	10	12	13	11	14	9	11	12	10	13
Melaleuca alternifolia	D1	13	9	14	11	7	11	8	3	14	3	10	7	2	13	2	6	4	4	3	3	5	3	3	2	2	4	2	2	1	1	3	4	1	4	2	2	3	0	3	1
	D2	11	7	11	13	10	6	4	5	3	5	5	3	4	2	4	3	3	3	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	0	0	2	3	1	3	2	1	2	0	2	1
	D3	9	10	10	11	7	3	5	7	5	4	2	4	6	4	3	2	4	2	3	1	1	3	1	2	0	0	2	0	1	0	2	2	1	3	1	1	1	0	2	0
	T	12	10	7	9	12	10	11	9	7	9	9	10	8	6	8	8	10	13	9	12	7	9	12	8	11	6	8	11	7	10	9	11	12	10	13	8	10	11	9	12

Anexo 6.

Promedio del efecto de tres agentes biológicos y tres dosis en el análisis temporal de la epidemiología de Moniliophthora perniciosa

Factor A	Factor B		Set-23	Oct-23	Nov-23	Dic-23	Ene-24	Feb-24	Mar-24	Abr-24	PROMEDIO
Trichoderma virens	D1	Dosis baja (5 g/L)	9.53	4.47	3.47	2.33	1.53	0.87	2.20	1.20	3.20
	D2	Dosis media (10 g/L)	10.67	3.87	2.87	2.07	1.20	0.60	1.67	0.67	2.95
	D3	Dosis alta (15 g/L)	10.47	3.60	2.60	1.67	1.27	0.67	1.33	0.33	2.74
	T	Testigo	10.60	9.33	8.33	8.40	9.07	8.13	9.33	8.33	8.94
Bacillus subtilis	D1	Dosis baja (5 ml/L)	10.07	7.20	6.20	4.07	2.60	1.60	3.87	2.87	4.81
	D2	Dosis media (10 ml/L)	9.93	5.07	4.07	3.07	2.20	1.13	3.07	2.07	3.83
	D3	Dosis alta (15 ml/L)	10.40	5.53	4.53	3.33	2.27	1.13	2.73	1.73	3.96
	T	Testigo	10.33	9.87	8.87	8.67	9.93	8.80	11.40	10.40	9.78
Melaleuca alternifolia	D1	Dosis baja (2.5 ml/L)	11.07	6.40	5.40	3.87	2.80	1.80	2.60	1.60	4.44
	D2	Dosis media (5 ml/L)	8.40	4.40	3.40	2.53	2.53	1.60	2.07	1.07	3.25
	D3	Dosis alta (7 ml/L)	8.53	4.40	3.40	2.27	2.60	1.60	2.20	1.20	3.28
	T	Testigo	10.60	10.47	9.47	9.53	9.60	8.40	10.00	9.00	9.63

Anexo 7.

Promedio del efecto de tres agentes biológicos y tres dosis en el análisis temporal de la epidemiología de Moniliophthora perniciosa, del mes de diciembre (8vo mes).

Factor A		Factor B		Nº brotes con hipertrofia		
Tratamiento y bloques				I	II	III
1	*Trichoderma virens*	D1	Dosis baja (5 g/L)	0.60	1.80	1.20
2		D2	Dosis media (10 g/L)	0.40	1.00	0.60
3		D3	Dosis alta (15 g/L)	0.20	0.40	0.40
4		T		9.80	9.20	6.00
5	*Bacillus subtilis*	D1	Dosis baja (5 ml/L)	2.80	3.20	2.60
6		D2	Dosis media (10 ml/L)	1.60	1.60	3.00
7		D3	Dosis alta (15 ml/L)	2.60	1.00	1.60
8		T		11.00	9.20	11.00
9	*Melaleuca alternifolia*	D1	Dosis baja (2.5 ml/L)	0.20	2.80	1.80
10		D2	Dosis media (5 ml/L)	1.00	1.00	1.20
11		D3	Dosis alta (7 ml/L)	1.20	1.60	0.80
12		T		8.80	8.20	10.00

Anexo 8.

Promedio del número de brotes hipertrofiados para el área bajo la curva del progreso de la enfermedad

Mes	Días	Trichoderma virens				Bacillus subtilis				Malaleuca alternifolia			
		D1	D2	D3	T	D1	D2	D3	T	D1	D2	D3	T
	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Setiembre	30	9.53	10.67	10.47	10.60	10.07	9.93	10.40	10.33	11.07	8.40	8.53	10.60
Octubre	60	4.47	3.87	3.60	9.33	7.20	5.07	5.53	9.87	6.40	4.40	4.40	10.47
Noviembre	90	3.47	2.87	2.60	8.33	6.20	4.07	4.53	8.87	5.40	3.40	3.40	9.47
Diciembre	120	2.33	2.07	1.67	8.40	4.07	3.07	3.33	8.67	3.87	2.53	2.27	9.53
Enero	150	1.53	1.20	1.27	9.07	2.60	2.20	2.27	9.93	2.80	2.53	2.60	9.60
Febrero	180	0.87	0.60	0.67	8.13	1.60	1.13	1.13	8.80	1.80	1.60	1.60	8.40
Marzo	210	2.20	1.67	1.33	9.33	3.87	3.07	2.73	11.40	2.60	2.07	2.20	10.00
Abril	240	1.20	0.67	0.33	8.33	2.87	2.07	1.73	10.40	1.60	1.07	1.20	9.00

Anexo 9.

Área bajo la curva del progreso de la enfermedad de Moniliophthora perniciosa frente a Trichoderma virens, Bacillus subtilis y Malaleuca alternifolia

Año 2023	*Trichoderma virens*				*Bacillus subtilis*				*Malaleuca alternifolia*			
	TD1	TD2	TD3	TT	BD1	BD2	BD3	BT	MD1	MD2	MD3	MT
Setiembre	286	320	314	318	302	298	312	310	166	126	128	159
Octubre	210	218	211	299	259	225	239	303	262	192	194	316
Noviembre	119	101	93	265	201	137	151	281	177	117	117	299
Diciembre	87	74	64	251	154	107	118	263	139	89	85	285
Enero	58	49	44	262	100	79	84	279	100	76	73	287
Febrero	36	27	29	258	63	50	51	281	69	62	63	270
Marzo	46	34	30	262	82	63	58	303	66	55	57	276
Abril	51	35	25	265	101	77	67	327	63	47	51	285
Total	893	858	810	2180	1262	1036	1080	2347	1042	764	768	2177

Anexo 10.

Registro fotográfico

Fotografía 1.

Recolección de basidiocarpos



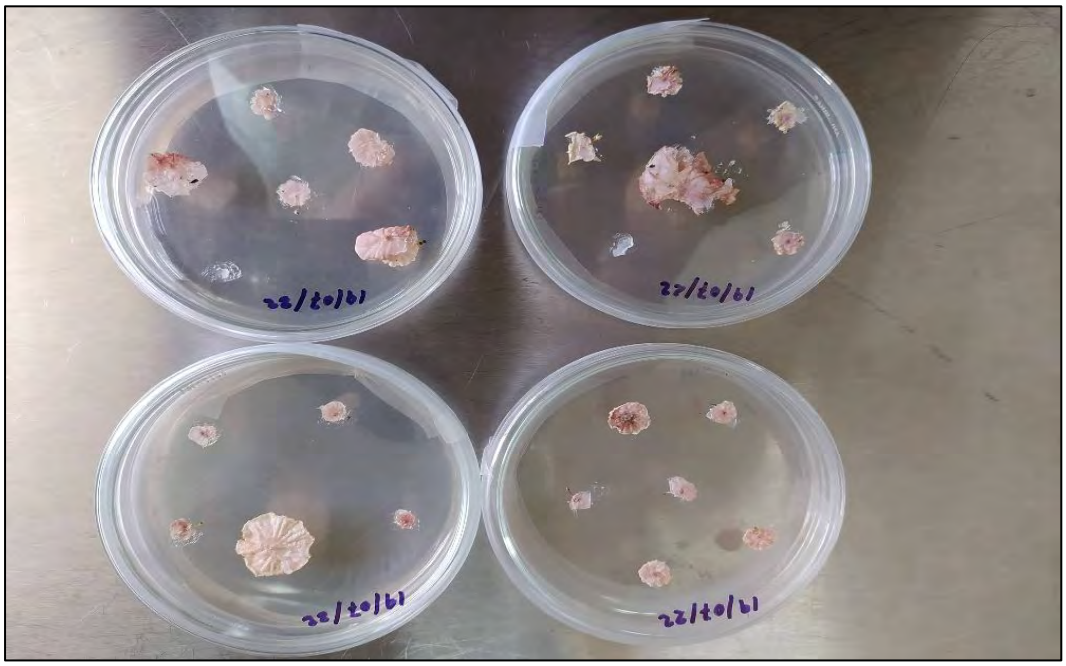
Fotografía 2.

Tejidos hipertrofiados necrosados con presencia de basidiocarpos



Fotografía 3.

Aislamiento por descarga de basidiocarpos.



Fotografía 4.

Propagación del patógeno para el enfrentamiento frente a los agentes de control biológicos.

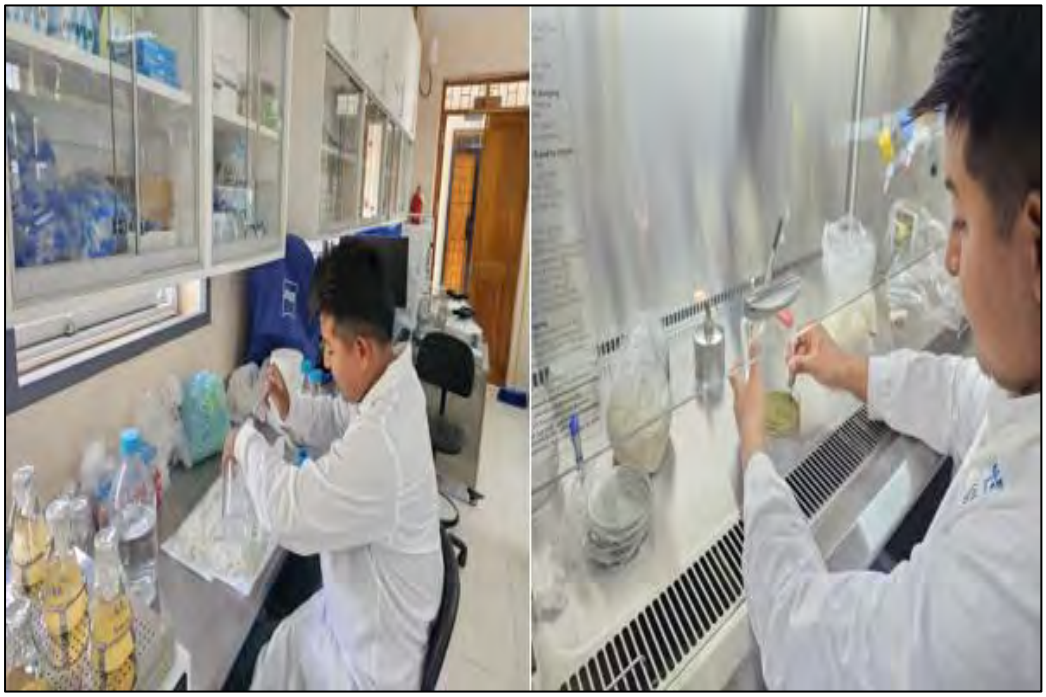


Figura 5.



Fotografía 6.

Propagación de Trichoderma viride en medio de cultivo de arroz.



Fotografía 7.

Propagación de Bacillus suptilis.



Fotografía 8.

Preparación de agentes biológicos para la aplicación en campo.



Fotografía 9.

Encintado de árboles para su identificación.



Fotografía 10.

Remoción de brotes hipertrofiados.





Fotografía 11.

Aplicación de agentes biológicos



Anexo 8.

Ficha técnica de Timorex Golg .



FICHA TECNICA

TIMOREX GOLD

LA NUEVA GENERACIÓN DE BIOFUNGICIDAS

1. GENERALIDADES :

a) Nombre comercial	:	TIMOREX GOLD
b) Ingrediente activo	:	Extracto de *Melaleuca alternifolia*
c) Clase de uso	:	Fungicida biológico
d) Formulación	:	Concentrado Emulsionable
e) Composición química:		Aceite de Melaleuca alternifolia.....222.5 g/L Aditivos.....777.5 g/L

2. PROPIEDADES FÍSICO – QUÍMICAS:

a) Aspecto	:	Liquido
b) Color	:	Amarillo-marrón
c) Olor	:	Característico
d) Estabilidad en almacén:		Estable durante 2 años a temperatura no mayor de 35°C
e) Inflamabilidad	:	Inflamable
f) Punto de inflamación	:	39°C
g) Corrosividad	:	No corrosivo
h) Explosividad	:	No explosivo
i) Compatibilidad	:	La formulación incluye surfactante. NO mezclar con reguladores de pH.
j) pH	:	9.0 – 9.3
k) Densidad	:	0.931 g/L a 22°C

3. TOXICOLOGÍA :

a) DL50 oral aguda	:	> 3000 mg/kg (ratas)
DL50 dermal aguda	:	> 4000 mg/kg (ratas)
b) Categoría toxicológica:		Ligeramente toxico
c) Antídoto en caso de Intoxicaciones	:	No hay un antídoto específico. El tratamiento será sintomático.
d) Precauciones para su uso	:	No comer, beber o fumar durante las operaciones de mezcla y aplicación. Conservar el producto en un lugar fresco y seco, bajo llave en su envase original, etiquetado y cerrado. No almacenar ni transportar conjuntamente con alimentos, medicinas, bebidas ni forrajes. No almacenar en casa habitada. Después de usar el producto cámbiese, lave la ropa contaminada y báñese con abundante agua y jabón. Utilice ropa protectora durante el manipuleo y aplicación y para ingresar al área tratada en las primeras 12 horas. Evite su inhalación, el contacto con la piel y los ojos. No re envasar el contenido en otros envases. Evite la ingestión del producto.

Calle René Descartes 311 Urb. Santa Raquel, 2da etapa, Ate, Lima
Telf.: 612-6565 - email: contacto@agroklinge.com
www.agroklinge.com.pe

4. MECANISMO DE ACCIÓN : **TIMOREX GOLD** gracias a sus componentes naturales ofrece múltiples mecanismos de acción sobre las células de hongos y bacterias. La actividad fungicida y antimicrobiana del extracto de *Melaleuca alternifolia* contra hongos fitopatógenos es consecuencia de su capacidad de alterar la permeabilidad de la membrana, provocando:

- Destrucción de la membrana celular
- Incremento de la permeabilidad de membranas
- Pérdida de citoplasma
- Inhibición de la respiración y el proceso de transporte de iones

5. MODO DE ACCIÓN : **TIMOREX GOLD** es un fungicida de contacto con excelente capacidad de penetración en el tejido de la planta a través de la cutícula (capa cerosa) hasta el mesófilo de empalizada.

6. FITOTOXICIDAD : **TIMOREX GOLD** no es fitotóxico en los cultivos y dosis recomendadas.

7. MODO DE APLICACIÓN : **TIMOREX GOLD** se emplea en pulverizaciones previa mezcla con agua, con cualquier equipo de aspersión. Aplicar con buen volumen de agua para asegurar una adecuada cobertura y buen control.

8. USOS Y DOSIS :

CULTIVO	PLAGAS		DOSIS	PC	L.M.R
	NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTIFICO	L/Cil	(días)	(ppm)
Fresa	"Pudrición gris"	*Botrytis cinerea*	1.0	0	---
Banano	"Sigatoka negra"	*Mycosphaerella fijiensis*	0.4	0	---
Pimiento	"Oídium"	*Leveillula taurica*	0.6 – 0.8	0	---
Vid	"Oídium"	*Uncinula necator*	0.5	0	---

P.C = Periodo de carencia **L.M.R** = Límite máximo de residuos

9. MOMENTOS DE APLICACIÓN : **TIMOREX GOLD** posee actividad preventiva (Inhibición de esporas) y curativa (Detiene el crecimiento del micelio y elimina colonias ya instaladas), pero se recomienda iniciar las aplicaciones de manera preventiva para evitar el incremento de daños.

Calle René Descartes 311 Urb. Santa Raquel, 2da etapa, Ate, Lima
Telf.: 612-6565 - email: contacto@agroklinge.com
www.agroklinge.com.pe

FICHA TÉCNICA

TIMOREX GOLD
LA NUEVA GENERACIÓN DE BIOFUNGICIDAS

10. N° DE REGISTRO SENASA	:	PBUA N° 246-SENASA
11. FABRICANTE	:	**STOCKTON (Israel) Ltd.** 17 Ha´Mefalsim St. Petach Tikva P.O.B. 3517, 49134, Israel
12. IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR:		**AgroKlinge S.A.** Av. Separadora Industrial Mz. E, Lote 12 Urb. Santa Raquel 2ª. Etapa – Ate, Lima, Perú Teléfono: 612-6565 contacto@agroklinge.com.pe