UNIVERSIDAD NACIONAL DE UCAYALI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMIA

EFECTO DE *Bacillus subtilis* Y *Trichoderma spp*. EN EL CONTROL DE LA MONILIASIS (*Moniliophthora roreri*) EN EL CULTIVO DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.) EN AGUAYTÍA

Tesis para optar el título profesional de

INGENIERO AGRÓNOMO

DEIVID RAMIREZ SARAVIA

PUCALLPA – PERÚ

2023

UNIVERSIDAD NACIONAL DE UCAYALI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA
CARRERA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

ANEXO 4

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN O TESIS

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos para estudiar y escuchar la sustentación de tesis, presentado por **DEIVID RAMÍREZ SARAVIA,** denominada: **"Efecto de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma* spp. En el control de moniliasis (*Moniliophthora roreri*) en el cultivo de cacao(*Theobroma cacao* L.) en Aguaytía",** para cumplir con el requisito (académico o título profesional) de **TÍTULO PROFESIONAL**.

Teniendo en consideración los méritos del referido trabajo, así como los conocimientos demostrados por la sustentante lo declaramos:
APROBADO con el calificativo (*) BUENO.

En consecuencia, queda en condición de ser considerado Apto por el Consejo Universitario y recibir el: (Grado Académico .....), (Título de **INGENIERO AGRÓNOMO**), de conformidad con lo estipulado en los Art. 3 y 6 del reglamento para el otorgamiento de grado académico de bachiller y título profesional de la Universidad Nacional de Ucayali.

Pucallpa, 14 de Abril del 2023.

.....	.....
Ing. Eliel Sánchez Marticorena, M.Sc.	Ing. Jessica Madeley Ríos Guzmán, M.Sc.
Presidente	Secretario
.....	.....
Ing. Roger Vásquez Gómez, M.Sc.	Ing. Pablo Pedro Villegas Panduro, M.Sc.
Miembro	Asesor

(*) De acuerdo con el Art. 21 del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Ucayali, éstas deberán ser calificadas con términos de Sobresaliente, Aprobado por Unanimidad, Aprobado por Mayoría y Desaprobado.

Esta tesis fue aprobada por el Jurado Evaluador de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Ucayali, como requisito para optar el Título de Ingeniero Agrónomo.

Ing. Eliel Sánchez Marticorena, M.Sc. ..... PRESIDENTE

Ing. Jessica Madeley Rios Guzmán, M.Sc. ..... SECRETARIO

Ing. Roger Vásquez Gómez, M.Sc. ..... MIEMBRO

Ing. Pablo Pedro Villegas Panduro, M.Sc. ..... ASESOR

Bach. Deivid Ramírez Saravia. ..... TESISTA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE UCAYALI

UByP - REPOSITORIO INSTITUCIONAL

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE TESIS

REPOSITORIO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE UCAYALI

Yo, Deivid Ramirez Saravia

Autor(a) de la TESIS de pregrado titulada:

« Efecto de Bacillus subtilis y Trichoderma en el control de moniliasis (Moniliophthora roreri) en el cultivo del cacao (theobroma cacao L.) en Aguaytia »

Sustentada el año: 2023

Con la asesoría de: Mg. Pablo Pedro Villegas Panduro

En la Facultad de: Ciencias Agropecuarias

Escuela Profesional de: Agronomia

Autorizo la publicación:

PARCIAL ☐ Significa que se publicará en el repositorio institucional solo La caratula, la dedicatoria y el resumen de la tesis. Esta opción solo es válida marcar **si su tesis o documento presenta material patentable**, para ello deberá presentar el trámite de CATI y/o INDECOPI cuando se lo solicite la DGPI UNU.

TOTAL ☒ Significa que todo el contenido de la tesis y/o documento será publicada en el repositorio institucional.

De mi trabajo de investigación en el Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de Ucayali (www.repositorio.unu.edu.pe), bajo los siguientes términos:

Primero: Otorgo a la Universidad Nacional de Ucayali **licencia no exclusiva** para reproducir, distribuir, comunicar, transformar (únicamente mediante su traducción a otros idiomas) y poner a disposición del público en general mi tesis (incluido el resumen) a través del Repositorio Institucional de la UNU, en formato digital sin modificar su contenido, en el Perú y en el extranjero; por el tiempoy las veces que considere necesario y libre de remuneraciones.

Segundo: Declaro que la **tesis es una creación de mi autoría** y exclusiva titularidad, por tanto me encuentro facultado a conceder la presente autorización, garantizando que la tesis no infringe derechos de autor de terceras personas, caso contrario, me hago único(a) responsable de investigaciones y observaciones futuras, de acuerdo a lo establecido en el estatuto de la Universidad Nacional de Ucayali, la Superintendencia Nacional de Educación Superior Universitaria y el Ministerio de Educación.

En señal de conformidad firmo la presente autorización.

Fecha: 21 / 04 / 2023

Email: deividunu@gmail.com

Teléfono: 917 224 880

Firma:

DNI: 61398659

www.repositorio.unu.edu.pe

repositorio@unu.edu.pe

DEDICATORIA

Dedico mi tesis con todo mi amor y cariño a mis padres por haberme educado con esfuerzo en valores, a mis hermanos y mi amada esposa que me motivaron constantemente, nunca me dejaron caer para que siguiera adelante y pueda lograr mis objetivos.

AGRADECIMIENTO

A mi alma mater Universidad Nacional de Ucayali por formarme como profesional con los mejores catedráticos de la región Ucayali.

A los catedráticos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias por brindarme sus enseñanzas durante mi formación académica.

Al Ing. M. Sc. Pablo Pedro Villegas Panduro, asesor de la tesis por sus consejos y apoyo en la ejecución y la redacción de la tesis.

A mis compañeros de estudio por su apoyo en el aspecto moral, con los que compartí alegrías y tristezas.

INDICE

RESUMEN viii

ABSTRACT ix

INTRODUCCION 1

I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA. 3

1.1. Antecedentes de la investigación. 3

1.2. Bases teóricas 5

II. MATERIALES Y METODOS. 26

2.1. Tipo de investigación 26

2.2. Ubicación 26

2.3. Duración del experimento 26

2.4. Ecología y clima 26

2.5. Materiales y equipos 27

2.6. Variables 28

2.7. Procedimientos 29

2.8. Población y muestra 33

2.9. Diseño estadístico 33

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN. 35

3.1. Evaluación de mazorcas sanas. 35

3.2. Evaluación de la Escala de abundancia. 37

3.3. Evaluación del porcentaje de Incidencia. 39

3.4. Evaluación del total de mazorcas sanas, escala de abundancia y porcentaje de incidencia de Moniliasis. 41

IV. CONCLUSIONES 44

V. RECOMENDACIONES. 45

VI. LITERATURA CONSULTADA. 46

RESUMEN

La investigación se realizó durante los meses de junio a diciembre del año 2022 en el caserío Centro Yurac, Distrito y Provincia de Padre Abad, departamento Ucayali. La parcela en la cual se realizó el experimento fue una plantación de cacao con 6 años de instalado, correspondiente al clon CCN 51, cuyas coordenadas fueron UTM 18L 8997459 N - 0444106 E. El objetivo planteado fue determinar el efecto de dos controladores biológicos (*Trichoderma* sp y *Bacillus subtilis)* y la combinación de ambos) en el control de la moniliasis (*Moniliophthota roreri*) del cultivo de cacao (*Teobroma cacao* L.) en Aguaytía; para lo cual, se plantearon cuatro tratamientos: T1., testigo; T2., aplicación de *Trichoderma* sp; T3., aplicación de *Bacillus subtilis* y T4. La aplicación combinada de *Trichoderma* sp + *Bacillus subtilis*. Durante el experimento, se realizaron 8 aplicaciones y siete evaluaciones. Las aplicaciones se realizaron cada 15 días, a las 4 pm para evitar que los rayos del sol afectasen a los controladores biológicos. Se inicio realizando las labores agronómicas como desmalezado, podas, demarcación y designación de tratamientos y repeticiones del área experimental. Los parámetros evaluados fueron: Número de mazorcas sanas, escala de abundancia de Moniliasis y el porcentaje de incidencia, concluyéndose que el T4., es decir, la aplicación combinada de *Trichoderma* sp + *Bacillus subtilis* mostro un mayor control sobre *M. roreri*, presentando el mayor número de mazorcas sanas (22.17), menor escala de abundancia de moniliasis (3.87) y el menor porcentaje de incidencia (12.8); seguido de los tratamientos T2 y T3 respectivamente como se muestra en el cuadro 7.

Palabras claves: Control biológico, organismos antagónicos, escala de abundancia, sinergismo, cacao.

ABSTRACT

The investigation was carried out during the months of June to December of the year 2022 in the Centro Yurac hamlet, District and Province of Padre Abad, Ucayali department. The plot in which the experiment was carried out was a cocoa plantation 6 years old, corresponding to clone CCN 51, whose biological coordinates were UTM 18L 8997459 N - 0444106 E. The objective was to determine the effect of two controllers (Trichoderma sp and Bacillus subtilis) and the combination of both) in the control of moniliasis (Moniliophthota roreri) of cocoa (Teobroma cacao L.) in Aguaytía; for which, four treatments were proposed: T1., control; T2., application of Trichoderma sp; T3., application of Bacillus subtilis and T4. The combined application of Trichoderma sp + Bacillus subtilis. During the experiment, 8 applications and seven evaluations were carried out. The applications were made every 15 days, at 4 pm to prevent the sun's rays from affecting the biological controllers. It began with agronomic tasks such as weeding, pruning, demarcation and designation of treatments and repetitions of the experimental area. The parameters evaluated were: Number of healthy ears, Moniliasis abundance scale and incidence percentage, concluding that T4., that is, the combined application of Trichoderma sp + Bacillus subtilis showed greater control over M. roreri, presenting the greater number of healthy ears (22.17), smaller scale of abundance of moniliasis (3.87) and the lowest percentage of incidence (12.8); followed by treatments T2 and T3 respectively as shown in table 7.

Keywords: Biological control, antagonistic organisms, scale of abundance, synergism, cocoa.

LISTA DE TABLAS

En el Contenido

Tabla 1. Ciclo vegetativo y reproductivo del cacao. 10
Tabla 2. Precipitación durante el año 2022 periodo que incluye el del trabajo de investigación 27
Tabla 3. Variables, tratamientos e instrumentos de medida 28
Tabla 4. Esquema del análisis de varianza 34
Tabla 5. Tratamientos estudiados. 34
Tabla 6. Numero de mazorcas sanas por evaluación. 35
Tabla 7. Resultados del ANVA de la escala de abundancia de Moniliasis por fechas. 37
Tabla 8. Evaluación del porcentaje de Incidencia de Moniliasis por fechas. 39
Tabla 9. Análisis del ANVA del total de mazorcas sanas, escala de abundancia y porcentaje de incidencia de Moniliasis. 41

En el Anexo

Tabla 10. ANVA para la primera evaluación de mazorcas sanas por planta. 55
Tabla 11. ANVA para la segunda evaluación de mazorcas sanas por planta. 55
Tabla 12. ANVA para la tercera evaluación de mazorcas sanas por planta. 55
Tabla 13. ANVA para la cuarta evaluación de mazorcas sanas por planta. 55
Tabla 14. ANVA para la quinta evaluación de mazorcas sanas por planta. 56
Tabla 15. ANVA para la sexta evaluación de mazorcas sanas por planta. 56
Tabla 16. ANVA para la septima evaluación de mazorcas sanas por planta. 56
Tabla 17. ANVA para la primera evaluación de escala de abundancia por planta. 56
Tabla 18. ANVA para la segunda evaluación de escala de abundancia por planta. 57
Tabla 19. ANVA para la tercera evaluación de escala de abundancia por planta. 57
Tabla 20. ANVA para la cuarta evaluación de escala de abundancia por planta. 57
Tabla 21. ANVA para la quinta evaluación de escala de abundancia por planta . 57
Tabla 22. ANVA para la sexta evaluación de escala de abundancia por planta. .. 58
Tabla 23. ANVA para la septima evaluación de escala de abundancia por planta. 58

Tabla 24. ANVA para la primera evaluación del porcentaje de incidencia por planta. 58
Tabla 25. ANVA para la segunda evaluación del porcentaje de incidencia por planta. 58
Tabla 26. ANVA para la tercera evaluación del porcentaje de incidencia por planta. 59
Tabla 27. ANVA para la cuarta evaluación del porcentaje de incidencia por planta. 59
Tabla 28. ANVA para la quinta evaluación del porcentaje de incidencia por planta. 59
Tabla 29. ANVA para la sexta evaluación del porcentaje de incidencia por planta. 59
Tabla 30. ANVA para la séptima evaluación del porcentaje de incidencia por planta. 60
Tabla 31. ANVA para el total de mazorcas sanas por planta. 60
Tabla 32. ANVA para el total de escala de abundancia por planta. 60
Tabla 33. ANVA para el total del porcentaje de incidencia por planta. 60

LISTA DE FIGURAS

En el Contenido

Figura 1. Fenología del cultivo de cacao (Fuente: Sutherland, 2009). 10
Figura 2. Colonias de M. roreri obtenidas a partir de mazorcas afectadas de cacao del CATIE en Turrialba: A) en agar extracto de malta; B) en agar jugo V8; C) detalles de producción de meiosporas; D) cadenas de meiosporas. (Pérez-Vicente, 2018). 13
Figura 3. Características macroscópicas y microscópicas de los aislados M2 de M. roreri (Lozada et al., 2012) 14
Figura 4. Ciclo de la moniliasis causada por Moniliophthora roreri (Cif y Par) Evans et al. en cacao (Sánchez et al., 2012). 16
Figura 5. Ciclo de vida de Moniliophthora roreri. A. Inicio de la infección, las esporas maduras son diseminadas por viento y agua. B. Penetración en la superficie del fruto, invadiendo las células parenquimáticas. C. Al primer mes pos-infección se observan abul 17
Figura 6. Muestras de mazorcas con síntomas y signos de Moniliasis encontrados en las evaluaciones en campo; a) Deformaciones; b) Mancha chocolate; c) Esporulación; d) Momificación (Villavicencio y Jiménez, 2010) 18
Figura 7. Secuencia de síntomas y signos presentes en frutos de cacao infectados con Moniliophthora roreri. A. Protuberancia o giba; B. Decoloración; C. Mancha chocolate; D. Estroma o tejido esporulante en forma de polvo fino; E. Esporas maduras (López-Báez, 201 19
Figura 8. Síntomas internos y externos de la moniliasis 19
Figura 9. Croquis de ubicación de los tratamientos. 30
Figura 10. Diseño de la unidad experimental. 31
Figura 11. Curva de numero de mazorcas sanas por evaluación. 36
Figura 12. Escala de abundancia de Monilia por fechas de evaluacion. 38
Figura 13. Incidencia de Monilia por planta. 40
Figura 14. Resultados promedios del total de frutos sanos, escala de abundancia y porcentaje de incidencia de Moniliasis. 42

INTRODUCCION

El cacao es un cultivo alternativo de desarrollo en la Amazonía peruana, por ser una planta perenne, tener mercado nacional y mundial asegurado, múltiples usos, además por la disposición de áreas para la siembra (Municipalidad Distrital de Irazola, 2013). Por ello, el desarrollo de la cadena productiva del cacao, desde el cultivo hasta la comercialización, viene siendo apoyada a través de diversas instituciones privadas (sin fines de lucro) y públicas, que canalizan la Cooperación Técnica Internacional, y las asociaciones generadas por los productores organizados (Chávez, 2003).

Las variedades que se encuentran instaladas y las que se vienen promocionando son los clones CCN-51, ICS-96 y criollos; este último de larga tradición y amplio uso en la zona (Municipalidad Distrital de Irazola, 2013). El rendimiento promedio es de 700kg/ha siendo este rendimiento aún muy bajo comparado con otras zonas productoras del país e internacional, debido al deficiente manejo del cultivo, a causa de una escasa asistencia técnica; pues solo el 24% de los productores cacaoteros reciben capacitación del PDA, y el 45% son capacitados por otros organismos cooperantes (gobierno, cooperativas, municipalidades, etc.) y aproximadamente el 30% de productores no reciben capacitación alguna (Municipalidad Distrital de Irazola, 2013).

La producción de cacao en el Perú hasta la década de los ochenta e inicios de los noventa fue favorable para el productor; Sin embargo, esta producción se vio afectada por la aparición de diferentes enfermedades como la Moniliasis del cacao, la mazorca negra y la escoba de bruja, reduciendo las cosechas y por lo tanto afectando la economía del 90% de los productores a nivel nacional; que aunadas a los problemas socio político y de narcotráfico presentes en las zonas productoras, generó un retraso en el desarrollo del cultivo del cacao (Paredes, 2003).

La moniliasis muestra una alta agresividad infectando frutos en todas las etapas de desarrollo de la mazorca, provocando pérdidas entre el 16 a 80% de las cosechas (IICA, 2006).

El uso del control biológico de enfermedades en cacao, es una de las ultimas estrategias que se está estudiando e implementando, las cuales abarca el uso de hongos y bacterias como organismos antagonistas, produciendo metabolitos,

actividades parasíticas y actividades de competencia por espacio y nutrientes contra microorganismos patógenos; además, la inducción de resistencia en el árbol de cacao, dentro de los cuales se indica el uso de *Trichoderma* sp., y bacterias, como el *Bacillus* sp., los cuales tienen la capacidad de desarrollar diferentes procesos metabólicos que les permiten ser los mejores candidatos para su empleo como agentes de control biológico contra la Moniliasis y la Escoba de Bruja en cacao (Tirado-Gallego, 2016).

El manejo de los problemas sanitarios continúa siendo un gran desafío, requiriéndose clones resistentes a las enfermedades, mejorar el manejo agronómico y una difusión de conocimientos prácticos sobre el manejo integrado de plagas y enfermedades (Hebbar, 2007), en los cuales destaca la utilización de agentes biológicos antagónicos como *Trichoderma* spp. y *Bacillus subtilis*, que generen condiciones adversas a los patógenos del cacao, como es el caso de *Moniliophthora roreri*.

Objetivo general.

Estudiar el efecto de la bacteria *Bacillus subtilis*, el hongo *Trichoderma spp*. y la mezcla de estos, en el control de la Moniliasis (*Moniliophthora roreri*) en el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.) en Aguaytía.

Objetivos específicos.

- Determinar el efecto de la bacteria *Bacillus subtilis* en el control de la Moniliasis (*Moniliophthora roreri*) en el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.) en Aguaytía
- Determinar el efecto del hongo *Trichoderma spp*. en el control de la Moniliasis (*Moniliophthora roreri*) en el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.) en Aguaytía.

I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

1.1. Antecedentes de la investigación.

Villamil et al. (2015) estudiaron la actividad antagónica de dos aislamientos autóctonos de *Trichoderma* sp. y uno de *Bacillus* sp. contra *M. roreri*, en campo; se plantearon los siguientes tratamientos: T1 (hongo H5); T2 (hongo H20); T3 (bacteria B3) y T4 (testigo). Los resultados que se obtuvieron fueron la disminución del daño en los frutos de 19,5 y 11,2% en el T1, del 28 y 19,5% en el T2 y del 13,5 y 8,5% en el T3., concluyéndose que, el hongo H20 (*Trichoderma* sp.) presento el mayor potencial de control de la moniliasis del cacao en condiciones de campo.

Seng et al. (2014) estudiaron el uso de *Trichoderma* spp. para prevenir y reducir la infección por la moniliasis, aplicando mezclas: (control, agua; agua más suelo esterilizado; agua más *Trichoderma* y agua más suelo esterilizado más *Trichoderma*) a 80 árboles de cacao, durante 35 días. Los resultados muestran que, la aplicación de la mezcla de Trichoderma y suelo esterilizado redujo significativamente la incidencia de moniliasis en un 11% ($p < 0,05$) en solo 35 días, en comparación con el control.

Peñaherrera et al. (2020) estudiaron mezclas de *Trichoderma* spp., y el aceite de palma para el control de la moniliasis en los clones de cacao EET-19, EET-95 y EET-103, sensibles a moniliasis; Los tratamientos fueron: aceite de palma + *Trichoderma koningiopsis* y *T. stromaticum* (T1), aceite de palma + *T. ovalisporum* (T2), *T. koningiopsis* + *T. stromaticum* (T3), *T. ovalisporum* (T4), Hidróxido de Cobre (T5) y un tratamiento control (T6); siendo los tratamientos T1 (50,27%) y T2 (41,68%), los que mostraron el mejor control de la enfermedad. Ademas, lograron mayor incremento del rendimiento de granos secos, con 30,18 y 29,46 %, respectivamente; demostrándose que las mezclas de *Trichoderma* spp., y aceite de palma fueron eficaces para el manejo de la moniliasis en el cacao.

Ramírez (2019) evaluó el potencial de biocontrol de cepas nativas de *Trichoderma* spp sobre la moniliasis (*Moniliophthora* sp.) trabajándose con 12 cepas nativas de *Trichoderma* spp y una de Moniliophthora sp, provenientes de plantaciones de cacao de la provincia de Bagua, demostrándose para las cepas nativas de *Trichoderma* spp 100% de mico parasitismo (CP10-3, CP14-5, CP24-6 y CP53-2), difiriendo significativamente respecto a los demás tratamientos,

asimismo, las cepas nativas de *Trichoderma* spp mostraron los porcentajes más altos de antibiosis sobre *Moniliophthora* sp.: la CP24-6, con 57.27% y para la cepa CP38-255., 84%, siendo la cepa nativa de *Trichoderma* spp CP24-6 la que mostro 78.64% de antagonismo contra *Moniliophthora* sp, siendo este este valor, el nivel máximo de antagonismo.

Mercedes-Soberanis (2009) determinó el antagonismo de ocho especies de *Trichoderma* spp, en el control de la moniliasis del cacao, a nivel de laboratorio y en campo. En la etapa de laboratorio, las ocho especies de *Trichoderma* spp, mostraron capacidad antagónica; sin embargo, la cepa TH mostró mayor adaptación y agresividad contra moniliophthora, con un desarrollo de 80.00 mm, seguido de las cepas AH29 (65.00 mm), la cepa TR4 (40.00 mm), la cepa B1M (10.00 mm) y las cepas AH35, AH17, N1M, AH11 con 5.00 mm respectivamente. Bajo condiciones de campo, los mejores resultados se obtuvieron con el tratamiento *T. harzianum* + *M. roreri*, con 420 frutos sanos, y el tratamiento *T. harzianum* solo, con 418 frutos sanos, finalmente, los tratamientos con mayor incidencia fueron *M. roreri* + *T. harzianum* y la mezcla (37.82 y 33.20 mazorcas afectadas con monilia); mientras que con los tratamientos *T. harzianum* + *M. roreri* y *T. harzianum* solo se obtuvieron 711.41 kg/ha y 708.13 kg/ha de almendras.

Ruiz (2017) evaluó las dosis 150 g, 300 g, 450 g y 600 g de *Trichoderma harzianum* para el control de *Moniliophthora rori* en cacao criollo tipo cundeamor en campo, observándose que, al aplicar la dosis de 300 g de *T. harzianum* a una frecuencia de 15 días, se obtuvo 13% de severidad externa. La aplicación de 450 g de *T. harzianum* durante las seis semanas de aplicación logró la mejor incidencia externa del patógeno. El mayor rendimiento de almendra de cacao se obtuvo en la aplicación de 450 g de *T. harzianum*, con un rendimiento de 1075.50 kg/ha, generando mayor beneficio económico.

Robles, 2008. Estudio el efecto supresor de bio preparados Basubtil y Cepacide y el producto químico Cuprofix en mazorcas de cacao híbrido CCN 51 para el control de Moniliophthora roreri Cif y Par. Las aplicaciones se realizaron cada tres semanas, observándose que, el tratamiento químico tuvo mayor cantidad de almendras sanas en relación que los biopreparados. La eficacia de Cepacide fue de 70,86 % y la de Basubtil de 69,56 %, y Cuprofix con 67,85 %. Cepacide mostró el menor porcentaje de daño interno de almendras, con 28,31%, Basubtil

alcanzó 29,94%, y Cuprofix 32,22%. Al analizar el ABCPE, Basubtil y Cepacide mostraron mejor control al efecto de *M. roreri*, con 143,6 y 144,7 respectivamente.

Pérez y Zorrilla (2017) estudiaron la aplicación de los biofungicidas Tricho D (*Trichoderma harzianum*) y el Basubtil (*Bacillus subtilis*) en el control de *M. roreri* en el clon de cacao EET 575, siendo los tratamientos: T1 (Tricho D), T2 (Basubtil), T3 (Tricho D. + Basubtil) y T4 (Testigo), realizándose 8 aplicaciones de los tratamientos, con una frecuencia de 21 días, demostrándose que el T3 (combinación de Tricho D. + Basubtil) mostró el mejor porcentaje de frutos sanos (82,58% en el primer periodo y 66,51% en el segundo periodos de evaluación).

1.2. Bases teóricas

Del cultivo del cacao

El cacao, es una especie vegetal originaria de América. Se considera que el centro de origen se encuentra en la cuenca del río Amazonas y el río Orinoco. El cacao esta diseminado desde el sur de México hasta las zonas tropicales de Brasil, Bolivia y Perú (MINAG, 2010).

A nivel mundial, las mayores áreas de producción se encuentran ubicadas entre los 10º de latitud norte y sur, esto incluye el Oeste Africano, América Latina y el Sudeste de Asia (MINAG, 2010).

La producción mundial de cacao durante el periodo 2009/2010, ascendió a 3.6 millones de toneladas de grano. África genera 2.5 millones de toneladas (68%) provenientes de Costa de Marfil (1.2 millones), Ghana (650 mil), Nigeria (260 mil) y Camerún (200 mil). Asia genera el 18%, provenientes específicamente de Indonesia (535 mil toneladas). Finalmente, América aporta con el 14%, enfocado en las zonas productoras de Brasil (155 mil), Ecuador (150 mil) y los demás países (ICCO, 2010).

La producción peruana de cacao representa el 0.7% del total mundial, ubicándose en el puesto Nº 13 en el ranking de países productores y 6to entre los países de América del Sur y el Caribe. El Perú, tiene condiciones agro ecológicas ideales para la producción de cacao de alta calidad (MINAG, 2010).

El principal producto de exportación es la manteca de cacao, la que llega a representar más del 34% y en menor escala chocolate, pasta de cacao, cacao en polvo y granos de cacao (MINAG, 2010).

En el 2006, el valor total de las exportaciones de cacao ascendió a US$ 41.3 millones. Los productores que poseen campos de cultivo menores a las 10 hectáreas, representan el 70% del área cacaotera nacional, el 19% del área cacaotera están constituidos por campos de cultivo de 10 y menores a 20 hectáreas, y los campos de cultivo que superan las 20 hectáreas constituyen el 11% del área cacaotera nacional (PDA, 2010).

En general, el 70% de la producción total de manteca de cacao se exporta, mientras que el 30% restante se destina al mercado local, siendo los principales mercados, en todos sus derivados, Chile, Holanda y Estados Unidos de Norteamérica y otros. Las principales zonas cacaoteras del Perú, en orden de importancia de producción total son: Cusco (especialmente la zona de La Convención-Quillabamba) 41.8%, Ayacucho (Valles del río Apurímac-Ene) 23.6%, Junín (especialmente la zona de Satipo) 13%, Huánuco (especialmente la zona de Tingo María) 6%, Amazonas 6% (especialmente la zona de Bagua y alto Marañón), San Martín con 2.7% y Ucayali con el 2 % de la producción total (ICCO, 2010).

Taxonomía del cacao

Según Miranda (2015), presenta los siguientes detalles taxonómicos:

- División: Fanerógamas
- Clase: Angiosperma
- Subclase: Dicotiledónea
- Orden: Malvales
- Familia: Esterculeaceae
- Género: Theobroma
- Especie: *Theobroma cacao* L.

Descripción botánica

El cacao es una planta alógama, es decir, de polinización cruzada, la cual es realizada por pequeños insectos. Tiene una raíz principal (pivotante) que llega a crecer entre 1.20 y 1.50 metros de profundidad. Las raíces secundarias y terciarias, responsables de la absorción de nutrientes y humedad se encuentran, en su mayor parte, en los primeros 20 cm de profundidad y cubren un diámetro similar a la copa del árbol (Trinidad, 2011).

El tronco crece verticalmente hasta una altura entre 80 y 100 cm, a partir de la cual, se forma la corona u horqueta producto del desarrollo de yemas auxiliares, el cual se repite muchas veces, generando que el árbol de cacao pueda lograr alturas de hasta 10 m (Trinidad, 2011).

Las hojas son alargadas, simples, enteras, de color verde con tonalidades variables. El tiempo de vida de una hoja, en condiciones normales, es un año (Batista, 2009).

Las inflorescencias se ubican en la base de las hojas y aparecen, principalmente, en las partes viejas o troncos maduros. Frecuentemente, las primeras flores aparecen después del tercer año de vida, siendo factible que, en algunos clones aparezcan a partir del segundo año. La mayoría de clones de cacao florece todo el año, dependiendo de que no se registren periodos largos de sequía o variaciones drásticas de temperatura (Benito, 2010).

La mazorca del cacao (fruto) es una drupa grande, de forma, tamaño y color variable. La pared del fruto es generalmente gruesa y dura, presentan surcos profundos y superficiales, tiene aproximadamente 25 cm de largo, 8 a 10 cm de diámetro y pesa 300 - 400 g. La cáscara carnosa de 2 cm de grosor cubre la pulpa gelatinosa y agridulce con alto contenido de azúcar (Benito, 2010).

La mazorca contiene 25 a 50 semillas (almendras), de sabor amargo y dispuestas en 5 - 8 filas oblongas, una junta a la otra. Estas almendras son de forma oval, alargadas y redondeadas, pudiendo medir hasta 3 cm de longitud (PDA, 2010).

En los trópicos, el cacao florece casi todo el año, especialmente en época seca, y las mazorcas maduran finalizando la época lluviosa o iniciando la época seca (Lojka, 2009).

Condiciones climáticas para el cacao.

- **Precipitación**

  El cacao requiere un adecuado suministro de agua para desarrollar sus procesos fisiológicos. En vista que la precipitación varia significativamente de una a otra región, se convierte en el factor que determina las diferencias en el manejo del cultivo (Somarriba y Quesada, 2011). Los rangos de precipitación para el cacao se encuentran desde 1600 a 2500

mm distribuidos durante todo el año. Si las precipitaciones excedan los 2600 mm, afectaran la producción del cultivo (Benito, 2010).

- **Temperatura**

  La temperatura es un factor de mucha importancia debido a su relación con el crecimiento, floración y fructificación del cultivo de cacao. La temperatura media anual optima debe estar en un rango de 25°C (Benito, 2010). Temperaturas bajas afectan significativamente, reduciendo la velocidad de crecimiento vegetativo, desarrollo de fruto y la intensidad de la floración. Así mismo, la temperatura afecta el funcionamiento de las raíces y el brotamiento de la planta (Arévalo, 2004).

  Arévalo (2004), indica que la temperatura para el cultivo de cacao debe estar entre los valores siguientes:

  - ✓ Mínima: 23°C
  - ✓ Máxima: 32°C
  - ✓ Optima: 25°C

  Las temperaturas extremas están relacionadas con la altitud y latitud en el cultivo de cacao. La absorción del agua y de los nutrientes por las raíces de la planta del cacao está regulada por la temperatura, por este motivo, es que, la actividad de las raíces disminuye a temperaturas menores de 15°C (INIA-ICT, 2006).

- **Viento**

  Es el factor que determina la velocidad de evapotranspiración del agua en la superficie del suelo y de la planta (Benito, 2010). Las plantaciones expuestas continuamente a vientos fuertes se manifiesta defoliación o caída prematura de hojas. En plantaciones donde la velocidad del viento es del orden de 4 m/s y con muy poca sombra, es frecuente observar defoliaciones fuertes. Comparativamente, en regiones con velocidades de viento del 1 a 2 m/s no se observa dicho problema (Lojka, 2009).

- **Altitud**

  El cacao se desarrolla de manera óptima en las zonas tropicales, desde el nivel del mar hasta los 800 metros de altitud. Sin embargo, en latitudes cercanas al Ecuador, las plantaciones se desarrollan normalmente, aun en altitudes que van del orden de los 1000 a 1400 msnm (IICA, 2009).

La altitud es un factor secundario en comparación a los factores climáticos y edafológicos en una plantación de cacao (Lojka, 2009).

- **Luminosidad**

  La luz es un factor de importancia para la fotosíntesis y el desarrollo del cacao; en la etapa de instalación en los campos de cultivo, se recomienda la siembra de plantas que provean sombra temporal al cacao, ya que las plantaciones jóvenes pueden afectarse por la acción directa de los rayos solares. En plantaciones ya establecidas, una intensidad lumínica menor del 50% del total de la luz puede reducir los rendimientos, mientras que una intensidad superior al 50% del total de la luz los aumenta (Robles, 2007).

Fenología del cultivo del cacao

El desarrollo vegetativo y la capacidad productiva del cacao están íntimamente relacionados con las condiciones climáticas de la zona de cultivo. Por esta razón, los factores climáticos influyen en la producción de una plantación; por lo tanto, la temperatura y la humedad deben ser óptimas para el cultivo por ser una planta perenne y sus etapas fenológica (floración, brotamiento y cosecha) están reguladas por las condiciones climáticas, permitiéndonos elaborar calendarios agroclimáticos (MINAG, 2004).

Sánchez (2011), afirma que el cacao presenta 4 etapas fisiológicas bien diferenciadas, y, se da en forma simultánea entre ellas, tenemos: la floración, el cual dura 6 meses; el desarrollo y llenado de mazorcas, el cual tiene una duración de 6 meses; maduración de frutos dura 6 meses.

Floración: Cerda (2009) cita a Mossu (1992) y Enríquez (2004) afirma que la floración se inicia a los 3 años de edad en plantas francas y al año y medio o 2 años en clones. Desde la emergencia del cojín floral hasta su apertura transcurren 30 días, después de su apertura, las flores son viables por 2 días, si no son polinizadas entonces caen. Los árboles emiten gran cantidad de flores, sin embargo, menos del 60% son polinizadas, logrando convertirse en mazorcas (frutos) como máximo hasta el 5%, el cual es muy bajo.

Fructificación: Cerda (2009), afirma que desde la polinización/fecundación hasta la maduración de la mazorca pasan 5 a 7 meses.

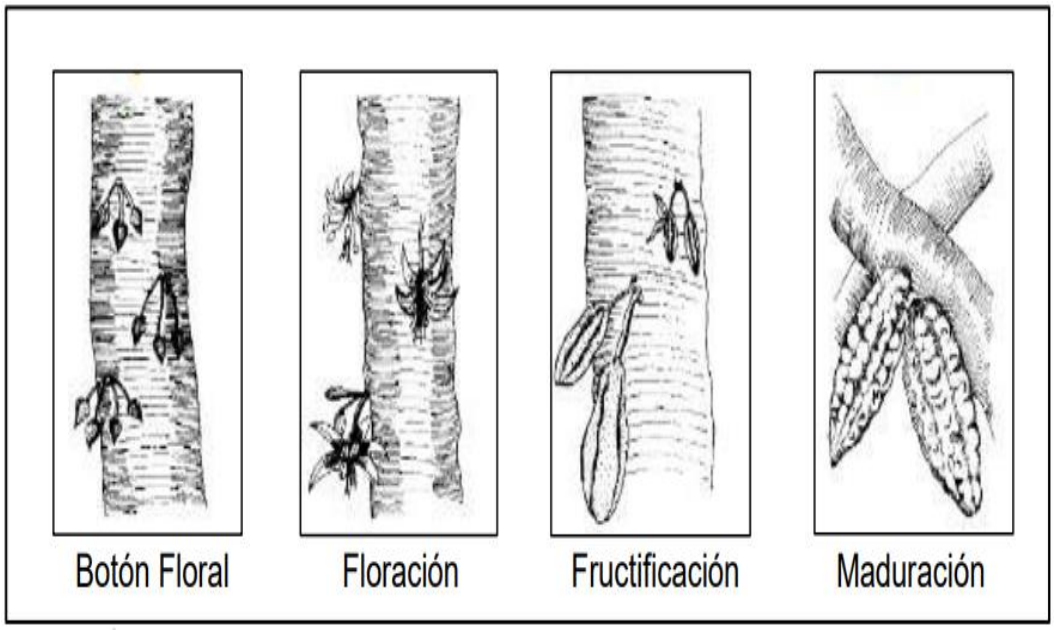
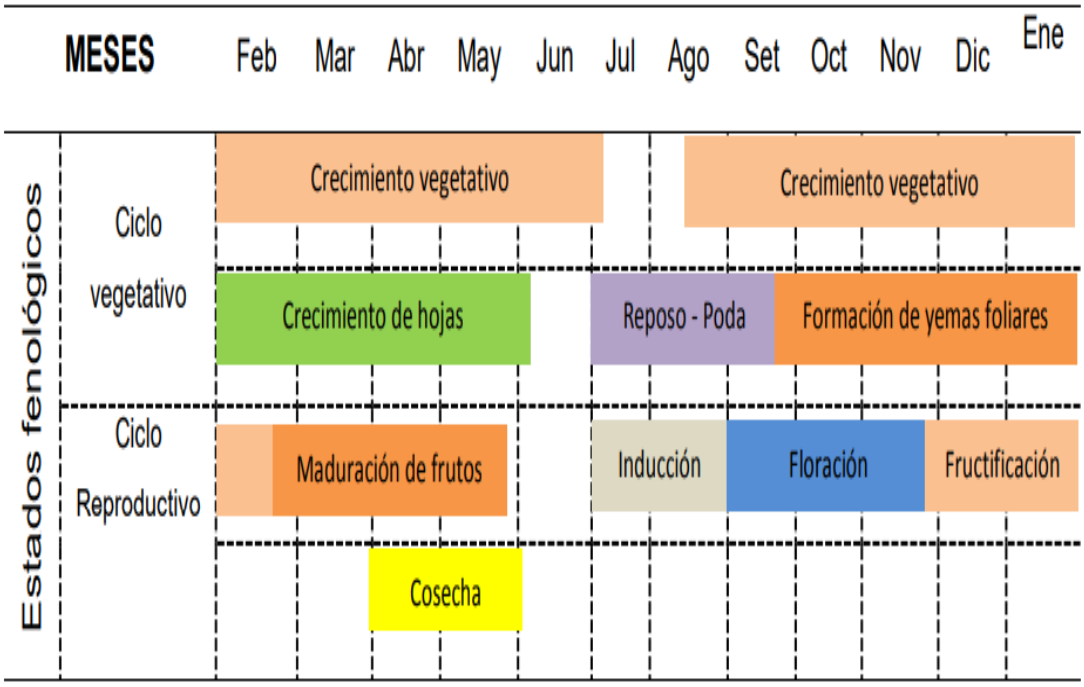


Figura 1. Fenología del cultivo de cacao (Fuente: Sutherland, 2009).

Tabla 1. Ciclo vegetativo y reproductivo del cacao.



Nota: MINAG (2011).

De la enfermedad (Moniliasis)

M. roreri afecta únicamente a los frutos del cacao (*Theobroma cacao*) y de especies cercanas como el macambo (*T. bicolor*) y el copuazù (*T. grandiflorum*). En cacao puede causar diferentes síntomas o combinaciones de estos. Esporádicamente aparecen frutos que aparentan estar sanos pero que internamente están dañados, los cuales se reconocen por ser más pesados. (Phillips-Mora y Cerda, 2011).

Sobre las manchas de color café se desarrolla una masa algodonosa de color blanco que viene a ser el micelio. El micelio algodonoso va oscureciéndose debido a la madurez, produciéndose en ella, millones de esporas diminutas que son las estructuras de propagación del hongo, las cuales se desprenden cuando están secas formando un polvillo (Phillips-Mora y Cerda, 2011).

Las esporas son transportadas hasta las mazorcas sanos principalmente por el viento. Otros agentes de diseminación son las salpicaduras de la lluvia, los animales y los seres humanos. La presencia de humedad en la superficie de la mazorca, facilitan la inoculación, germinación y penetración de las esporas. Las mazorcas (menos de 3 meses de desarrollo), son los más vulnerables (Phillips-Mora y Cerda, 2011).

La duración del ciclo biológico depende de la variedad del cacao y de las condiciones ambientales. El ciclo biológico es más corto en climas calientes y húmedos (Phillips-Mora y Cerda, 2011).

Agente causal y ubicación taxonómica

El agente causal de la moniliasis, es *Moniliophthora roreri*, un organismo del dominio Eukaryota,

- Reino Fungi
- Phyllum Basidiomycota
- Clase Basidiomycetes
- Subclase Agaricomycetidae
- Orden Agaricales
- Familia Tricholomataceae
- Género Moniliophthora
- Especie *M. roreri* (Jaimes y Aranzazu, 2010)

Estudios recientes sobre la taxonomía del hongo mediante pruebas morfológicas, citológicas y moleculares confirman que este patógeno como Basidiomicete (Evans et al., 2003), correspondiente al orden Agaricales (Phillips-Mora, 2003, citado por Moreira, 2006), y familia Marasmiaceae (Aime y Phillips-Mora, 2005).

La moniliasis también es conocida como pudrición acuosa, helada, mancha ceniza o enfermedad de Quevedo (PROAMAZONIA, 2003).

Se determinó que en las esporas de *M. roreri*, se produce meiosis, por este motivo, es incorrecto referirse a estas esporas como conidios. Parece que esto se origina del antepasado de *M. roreri,* el cual perdió la capacidad de formar un basidiocarpo, pero conservo la capacidad de generar la división nuclear meiótica (Evans et al., 2003). Todo lo mencionando anteriormente, sugiere que los propágulos de Moniliophthora, deben denominarse esporas y no conidios, estas esporas provienen de un basidio modificado, con un seudo estroma denso y carnoso sobre el cual el hongo produce los vestigios del pileo. Las esporas son multifuncionales, ya que sirven para la recombinación genética, para el proceso de propagación, infección y sobrevivencia (Evans, 2007). Las esporas de *M. roreri* pueden tener formas

Esféricas u ovaladas, germinando a través del poro germinativo o directamente a través de su pared (Urquillas, 2004). Las esporas viejas forman paredes gruesas y se vuelven oscuras, iniciando la fase de dormancia (Evans, 2007). El tubo germinativo presenta en el extremo distal una estructura similar a un apresorio y la hifa infectiva. Éste es único y en raras ocasiones doble (Urquillas, 2004).

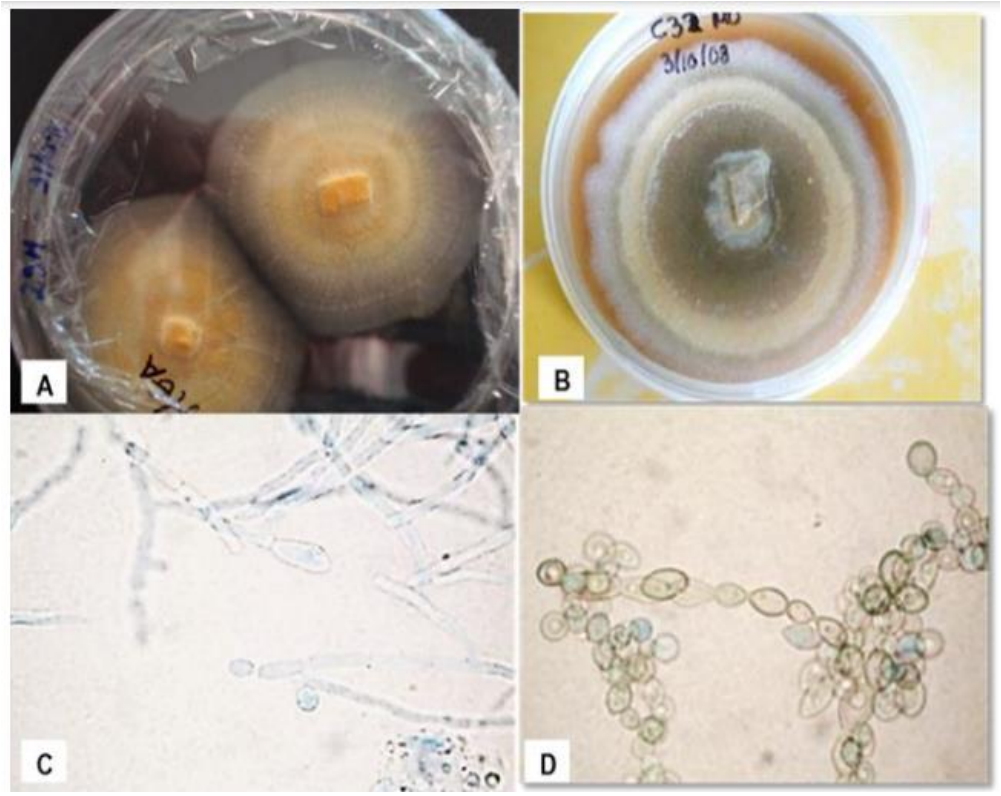
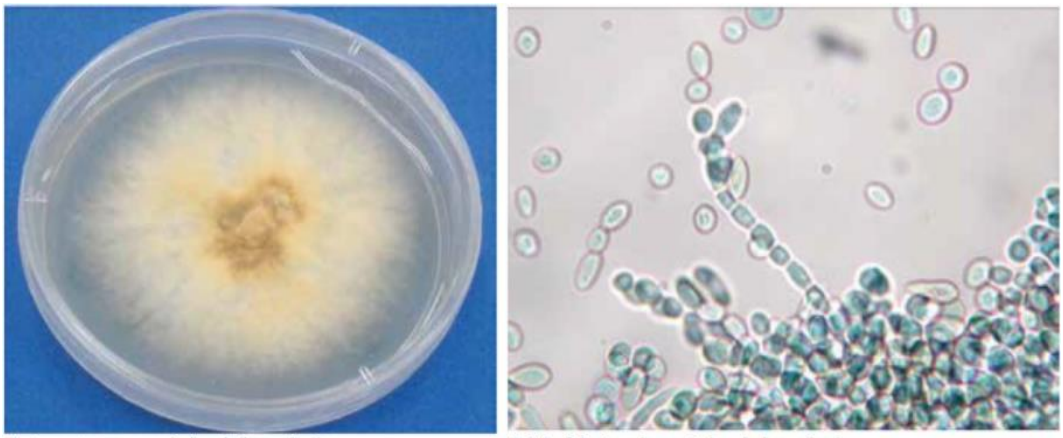


Figura 2. Colonias de M. roreri obtenidas a partir de mazorcas afectadas de cacao del CATIE en Turrialba: A) en agar extracto de malta; B) en agar jugo V8; C) detalles de producción de meiosporas; D) cadenas de meiosporas. (Pérez-Vicente, 2018).

Actualmente, no se desconoce el estado perfecto, sexual o teleomorfo de M. roreri, por lo cual, se afirma que su reproducción se realiza asexualmente por esporas, las mismas que son capases de causar infección (Evans et al., 2003).

M. roreri es un hongo mitospórico dentro de los Agaricales., el cual, de acuerdo a estudios desarrollados en microscopía electrónica, demostraron que presenta una única espermatogénesis basipetal, como en Monilia (antiguo término referido al género Moniliophthora) y posee septos doliporos en el micelio, considerado como el estado mitótico (anamorfo) de un basidiomycete (Evans et al., 2003).

Estudios citológicos revelan que las conidias sirven como meiosporas; sugiriendo que estas esporas representan un basidum modificado que perdió la forma, espesor y carnosidad del basidiocarpo, formando solo un pileus vestigial (Evans, 2007).



A. Aspecto macroscópico de las colonias. **B.** Morfología microscópica de las colonias.

Figura 3. Características macroscópicas y microscópicas de los aislados M2 de M. roreri (Lozada et al., 2012)

El ciclo de vida de *M. roreri* durante el desarrollo de la enfermedad requiere más estudios, mostrando una fase biotrófica y otra hemibiotrófica (Tiburcio et al., 2010).

Las conidias pueden ser globosas, subglobosas y elípticas, pudiendo medir de 7 - 10.5, 6.3 - 9.3, 7.5 - 11.6 µm, respectivamente (Villavicencio y Jiménez, 2010).

Kendrick (1992), afirma que *M. roreri* genera toxinas específicas en las células del hospedero. Se han identificado cinco grupos genéticos principales de *M. roreri*: tres endémicos localizados en la Cordillera Central (Grupo Co-central) y Oriental (Grupo Co-oriente) de Colombia y en Ecuador (Grupo Gilari), el cuarto situado en el Oriente de Colombia (Grupo Bolívar), periferia de Ecuador, Venezuela y Perú, y el quinto ubicado en el Occidente de Colombia (Cordillera Occidental) (Grupo Co-occidente), Centro de Ecuador y América Central (Phillips-Mora et al., 2007).

Epidemiología y ciclo biológico

Se afirma que el centro de origen de *M. roreri* se encuentra en la región nororiental de Colombia, capaz de afectar especies de los géneros Herrania y Theobroma. El patógeno causante de la moniliasis fue inicialmente llamado *Monilia roreri* por Ciferri, y Parodi (1933) y clasificado dentro del filum Ascomicota, caracterizándolo como un hongo anamórfico debido a la aparente ausencia de un estado meiótico o sexuales y sus similitudes morfológicas con otros fitopatógenos del género (Evans et al., 2003). Sin embargo, Evans et al. (1978), realizó estudios de microscopia electrónica, determinaron la presencia de septo doliporo

(característico de hongos homobasidiomicetos) y un evento único de esporogénesis basipetal, motivo por el cual, se crea el nuevo género Moniliophthora (Evans et al., 2003; Griffith et al., 2003).

La moniliasis se puede observar a una altitud entre 0 y 1520 m.s.n.m., donde existe precipitación fluvial anual de 780 - 5,500 mm y una temperatura de 18 a 28 °C (Phillips-Mora, 2006; IICA, 2006).

Meléndez (1993) demuestra la existencia de una íntima relación entre la humedad relativa y el movimiento de esporas del hongo, afirmando que la esporulación se da en condiciones de 71 y 74% de humedad relativa y entre las 10:00 am hasta las 14:00 pm aproximadamente.

Según Phillips-Mora (2006), afirma que las condiciones secas, humedad relativa baja y temperatura mayor a 26 °C favorecen la liberación y dispersión de las conidias, asimismo, lluvias intensas y frecuentes favorecen la acumulación de agua sobre las mazorcas, favoreciendo la germinación y penetración de las conidias. La germinación de las conidias es óptima a temperatura media de 22 °C y humedad relativa del 93 % (Albuquerque et al., 2005).

La sobrevivencia de *M. roreri* se da en los residuos de cosecha (mazorcas contaminadas), para luego, las conidias son diseminadas por el viento y la lluvia, provocándose la contaminación de mazorcas con moniliasis de una plantación a otra (Navarro y Mendoza, 2006).

Algo similar menciona Albuquerque et al. (2005), quien afirma que la dispersión de los conidios, se realiza por el viento; asimismo, el agua de lluvia tiene un importante papel en las infecciones a corta distancia en la copa del cacao. Además, las labores de cosecha provocan que las esporas pueden movilizarlas en el aire y bajo condiciones óptimas de humedad y temperatura, infectan constantemente las mazorcas que recién están formándose (Amores et al., 2009a).

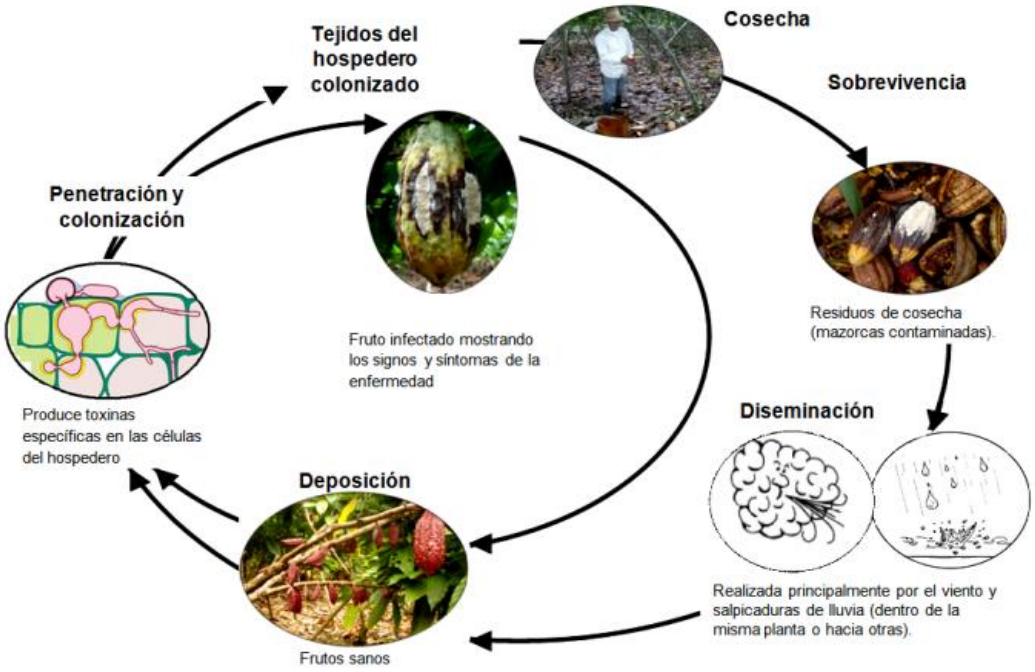


Figura 4. Ciclo de la moniliasis causada por Moniliophthora roreri (Cif y Par) Evans et al. en cacao (Sánchez et al., 2012).

Meléndez (1993), afirma que la mayor cantidad de esporas de *M. roreri* se encuentran a 1 metro de altura en las plantas de cacao. Los conidios se depositan sobre las mazorcas, germinan en presencia de agua o mueren por efecto de la radiación y/o desecación; y al germinar, pueden penetrar directamente la cáscara de la mazorca (Phillips-Mora, 2006).

La penetración se da directamente a través de los estomas, creciendo entre las células del córtex, produciendo conidios dentro y en la superficie de las mazorcas (Albuquerque et al., 2005). Una de las características del patógeno es su largo período de incubación antes de la expresión de los síntomas (Johnson et al., 2008).

El tiempo de infección se da entre 3 a 8 semanas, variando según la edad de la mazorca, la severidad del ataque, la susceptibilidad del árbol y las condiciones climáticas, especialmente la presencia de lluvias, mientras que en mazorcas tiernas, en días lluviosos y calurosos, el período de incubación se acorta a tres semanas (FHIA, 2003), sin embargo, Cruz (1993) afirma que el período de incubación (latencia) fluctúa entre 30 y 70 días.

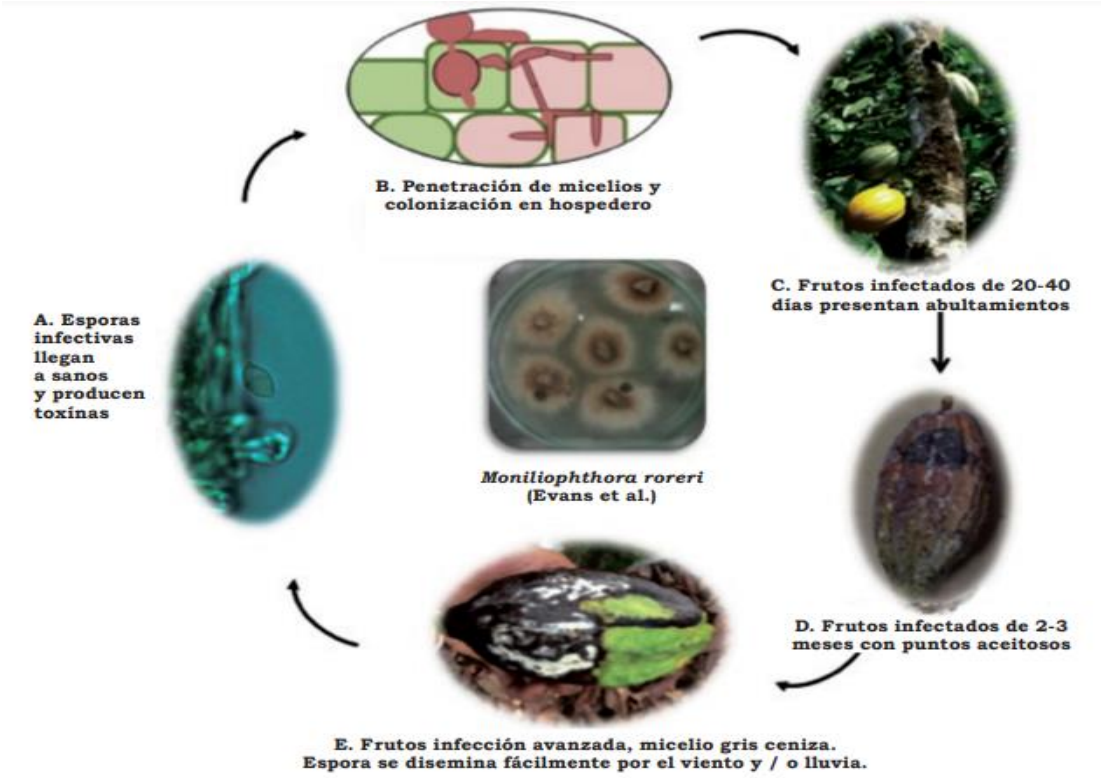


Figura 5. Ciclo de vida de Moniliophthora roreri. A. Inicio de la infección, las esporas maduras son diseminadas por viento y agua. B. Penetración en la superficie del fruto, invadiendo las células parenquimáticas. C. Al primer mes pos-infección se observan abul

Sintomatología

Se manifiestan síntomas externos e internos en todas las fases de desarrollo de la mazorca. El daño externo se expresa en una necrosis, deformación y pudrición en mazorcas, sin embargo, algunos frutos de 60 y 80 días pueden completar su desarrollo sin síntomas externos, pero con el tejido interno necrosado (Reuck, 1997).

El necrosamiento provoca la muerte de la mazorca, con un color café oscuro, el cual se cubre de una “felpa” de color crema, que están constituidas de esporas del hongo (Johnson et al., 2008).

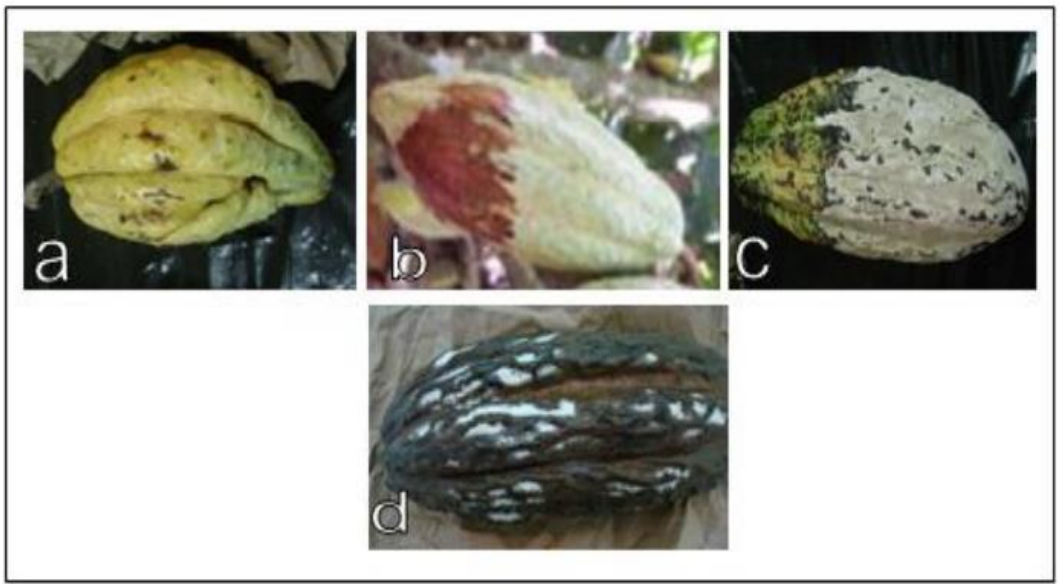


Figura 6. Muestras de mazorcas con síntomas y signos de Moniliasis encontrados en las evaluaciones en campo; a) Deformaciones; b) Mancha chocolate; c) Esporulación; d) Momificación (Villavicencio y Jiménez, 2010)

Los tejidos centrales, pulpa, semillas y algunas veces la cáscara, forman una sola masa en donde los tejidos son rodeados por una sustancia acuosa debido a la descomposición de ellos, siendo también las almendras destruidas parcial o completamente, dependiendo del tiempo de infección de la mazorca (IICA, 2006).

En mazorcas menores de dos meses, la infección aparece inicialmente como pequeños abultamientos o gibas (protuberancias) en la superficie de la mazorca, los cuales pueden decolorarse. Después que ha emergido la giba, se muestra una mancha café o chocolate, que se extiende progresivamente y la mazorca muere poco después, iniciándose la formación de una felpa blanca constituida por el micelio del hongo, para luego de tres a siete días, sobre el micelio blanquecino emergen las esporas de color crema (FHIA, 2003).

Un síntoma adicional es la madurez prematura, caracterizándose por un cambio de color de la mazorca, mostrando la apariencia de madurez en frutos que todavía están inmaduros (Johnson et al., 2008). Los frutos pequeños son susceptibles hasta 10 semanas de edad (Amores et al., 2009a).

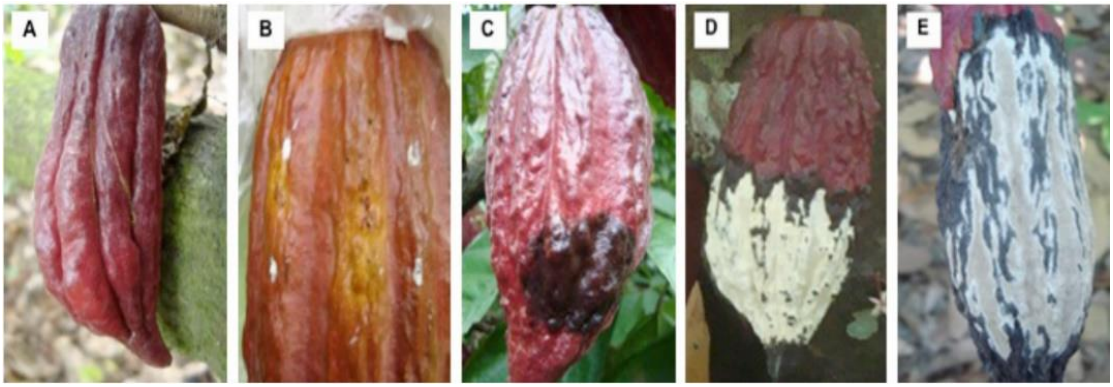


Figura 7. Secuencia de síntomas y signos presentes en frutos de cacao infectados con Moniliophthora roreri. A. Protuberancia o giba; B. Decoloración; C. Mancha chocolate; D. Estroma o tejido esporulante en forma de polvo fino; E. Esporas maduras (López-Báez, 201

Los frutos infectados a mitad de su desarrollo, muestra inicialmente pequeños puntos aceitosos (translúcidos), y en muy corto tiempo, esos puntos cohalescen formando una mancha café, el borde de la mancha es irregular y pueden formar un halo clorótico por donde va avanzando la enfermedad. A los pocos días, sobre la mancha café aparece el micelio sobre el cual emergen las esporas los cuales se acumulan abundantemente de color crema; las esporas que diseminan el hongo, son tan abundantes que en un centímetro cuadrado, pueden existir 7 a 43 millones, bastando sólo una espora para iniciar la enfermedad (Johnson et al., 2008).

En mazorcas con más de tres meses de edad, la necrosis se limita a la cáscara y no alcanza a llegar a las almendras que si pueden cosecharse y beneficiarse (Amores et al., 2009b).



Figura 8. Síntomas internos y externos de la moniliasis

a) tejidos centrales, pulpa, almendras y cáscara formando una sola masa producto de la pudrición; b) fruto mostrando una mancha café con borde irregular donde va avanzando la enfermedad; c) fruto donde se observa el micelio del hongo; d) mazorca con infecciones ocultas (internas), presentando hinchazones como pequeños abultamientos o gibas (protuberancias) (Sánchez et al., 2012).

De los bio controladores:

Mondino y Silvana (2006), afirma que las bacterias constituyen microorganismos que presentan características de agentes de control biológico contra hongos y bacterias, tanto en el área foliar como en el área radicular de las plantas, asimismo, favorece el desarrollo vegetativo de las plantas. Asimismo, estos autores afirman que dentro de los mecanismos para la estimulación del desarrollo vegetativo se puede indicar: mecanismo directos, por los cuales, los microorganismo actúan sobre la planta, como es el caso de los promotores de crecimiento vegetal (auxinas, giberelinas y citoquininas), y los mecanismos indirectos, en los cuales, los microrganismos son capaces de inhibir el desarrollo de diferentes microorganismos fitopatógenos (hongos y bacterias) que afectan el crecimiento de la planta, a través de la competencia por espacio o nutrientes, y la producción de biometabolitos.

Los principales mecanismos involucrados en el control biológico de fitopatógenos con el uso de bacterias antagonistas como *Bacillus* sp., son la competencia por nutrientes, minerales y espacio; la síntesis de metabolitos, tales como sideróroros, antibióticos, toxinas y biosurfactantes, y la inducción de resistencia sistémica en la planta (Melnick et al., 2011; Singh et al., 2011; Acebo et al., 2012). Estos mecanismos son potenciados por alta motilidad del microorganismo y su capacidad de formar biopelículas (Acebo et al., 2012).

El género *Bacillus*

El género *Bacillus* pertenece a las bacterias Gram positivas, no patogénicas, con características antagonistas, las cuales tienen forma bacilar, aeróbicas estrictas o anaeróbicas facultativas, que, en condiciones de estrés, desarrollan una endospora termo resistente a los factores físicos (desecación, radiación, ácidos desinfectantes químicos), que le permite sobrevivir y permanecer latente y biológicamente activa bajo condiciones adversas (Lisboa, 2003).

Los mecanismos de acción de *Bacillus* como agente antagónico frente a patógenos fúngicos y bacterianos son: competencia por espacio y nutrientes, antibiosis, inductor de resistencia y promotor del crecimiento de las plantas (Chávez et al., 2007).

El género Bacillus muestra capacidad de controlar ciertos fitopatógenos mediante la producción de compuestos de bajo peso molecular con mucha afinidad por el hierro, inhibiendo la germinación de las esporas de los hongos patógenos de plantas. Asimismo, genera antibióticos muy efectivos contra hongos, y cuando Bacillus se ubica en el sistema radicular o el en área foliar, estimula a la planta a elaborar fitoalexinas que generan resistencia al ataque de hongos y nemátodos patógenos, siendo esta característica de elicitor propia de *Bacillus* el cual no presentan los fungicidas químicos, sumando el hecho de que *Bacillus* no es tóxico para humanos, animales ni plantas y no constituye un contaminante ambiental (Camargo, 2012).

Mecanismos de acción de *Bacillus* sp.

Especies de *Bacillus* spp. promotores de crecimiento vegetal son reconocidos también como agentes de control biológico y una alternativa biológica al uso de agroquímicos. Sus mecanismos de acción se divide en: producción de compuestos antimicrobianos, como son péptidos de síntesis no ribosomal (NRPs) y policéptidos (PKs); producción de hormonas; capacidad de colonización; formación de biopelículas; competencia por espacio y nutrientes; síntesis de enzimas líticas como quitinasas, glucanasas, protesasas y acetil homoserin lactonasas (AHSL); producción de compuestos orgánicos volátiles (VOCs); e inducción de resistencia sistémica (ISR), confirmados en diferentes estudios a nivel in vitro. Sin embargo, son pocos los estudios que confirman la interacción entre: planta – microorganismos patógenos – Bacillus sp. (agente biocontrolador), a nivel in vivo. Es importante destacar que la actividad biocontroladora de los Bacillus es diferente cuando se estudia bajo condiciones de laboratorio, por cuanto, a nivel in vivo, la interacción con la planta y el patógeno juegan un papel fundamental en la expresión de dichos mecanismos de acción, siendo esta más cercana a la situación real de campo (Pedraza et al., 2020).

El género *Bacillus* se encuentra ampliamente distribuido en los agro-sistemas y una de sus principales aplicaciones es el control de enfermedades de cultivos agrícolas. En la presente revisión se describe y analiza al género *Bacillus*, y sus

principales mecanismos de acción, tales como la excreción de antibióticos, toxinas, sideróforos, enzimas líticas e inducción de resistencia sistémica, enfocado en su capacidad para ser utilizado como agente de control biológico de plagas y enfermedades en plantas; así como su uso en la formulación de bioplaguicidas, que han sido incorporados a los programas de Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades. Además, se analiza el uso del género *Bacillus* en la agricultura bajo un enfoque de bioseguridad agrícola, así como los principales criterios indispensables de selección de agentes de control biológico promisorios, considerando cepas no patogénicas para el ser humano, y que no impacten negativamente a las comunidades microbianas de los agroecosistemas, como efecto secundario por su actividad biológica no específica contra un fitopatógeno en particular (Villareal et al., 2018)

En el presente trabajo, se empleó el producto comercial BIOSAFE cuyas características son:

Presentación: Suspensión Concentrada (SC)

Composición: Contiene por lo menos 2.5 x 10^{9} ufc/ml de *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis es una bacteria antagonista de muchos agentes de enfermedades de plantas de naturaleza fungosa. Coloniza raíces de las plantas impidiendo que otros agentes lo infecten

Actúa como bio estimulante del crecimiento radicular debido a la secreción de fitohormonas lo que permite el incremento de masa radicular, mayor asimilación de agua y minerales. Además, no contamina el medio ambiente, es inocuo al hombre, animales y artrópodos útiles como las abejas; tampoco contamina el agua.

Mecanismo de acción. Biosafe, es un fungicida de contacto, de acción preventiva y curativa que forma una barrera física sobre el área cubierta por el caldo de aplicación.

Modo de acción. Los lipopeptidos presentes, actúan sinérgicamente y destruyen las paredes celulares de los patógenos; inhiben la formación del tubo germinativo, evitando la colonización.

Se ha reportado también la produccion de sideróforos que son compuestos extracelulares de bajo peso molecular, con una elevada afinidad por el ion He previniendo la germinación de esporas.

Compite por sustrato en la rizosfera y filosfera con los patógenos de las plantas. Asi como, al instalarse en las raíces y hoja de las plantas inducen a las plantas a producir fitoalexinas que les confiere resistencia a las plantas. (PBA, 2020) Falta poner en bibliografía

Trichoderma sp.

Taxonomía

Agrios (2005) afirma que el género *Trichoderma* comprende un conjunto de especies sin fase sexual evidente (anamorfo). Pertenece a la subdivisión Dueteromycotina: clase Hyphomycetes: orden Hyphales (Monililes) y Familia 15 Moniliaceae. Hasta el momento no se conoce que dicho hongo sea patógeno de ninguna planta, exceptuando a la especie *T. viride*. Sin embargo, es capaz de controlar e hiperparasitar, muchos hongos, nemátodos y otros fitopatógenos, que atacan y destruyen los cultivos.

Mecanismos de acción de Trichoderma

Entre los mecanismos de acción utilizados por *Trichoderma* spp. se destacan la competencia por el espacio y los nutrientes, el micoparasitismo, la producción de compuestos inhibidores, la inactivación de enzimas del agente patógeno y la inducción de resistencia en la planta (Martínez et al., 2008; Shoresh et al., 2010; Tchameni, 2011; Hernández et al., 2014).

Trichoderma spp. puede parasitar las hifas del patógeno a través de enrollamientos, ganchos y cuerpos de tipo apresorios, que penetran la pared celular por la acción hidrolítica de las enzimas quitinasas, glucanasas y celulasas (Bernal et al., 2007; Vinale et al., 2008). El efecto de antibiosis se debe a la producción de metabolitos secundarios, los cuales pueden ser volátiles o difusibles, pero que en cualquiera de los casos, sin entrar en contacto físico con el patógeno pueden inhibir o restringir su crecimiento (Rodríguez et al., 2010). Algunas cepas de Trichoderma producen trichodermina, dermadina, suzukacilina, viridina, alameticina, richotoxina, metabolitos que son responsables del mecanismo antagónico (Vinale et al., 2006). La desactivación de los factores de patogenicidad de Trichoderma contra hongos fitopatógenos constituye un mecanismo de antagonismo indirecto poco estudiado (Martínez et al., 2013). Es posible que el potencial enzimático de Trichoderma para detener el proceso infeccioso de los patógenos sea mucho mayor, pues este

controlador biológico secreta más de 70 metabolitos, entre ellos: sustancias estimuladoras del crecimiento y desarrollo de las plantas (Howell, 2003). Las cepas de *Trichoderma* pueden activar un mecanismo nativo de defensa en las plantas contra diferentes plagas, conocido como Resistencia Sistémica Inducida (SIR-Systemic Induced Resistance) (Shoresh et al., 2010; Martínez et al., 2013). Diversas clases de compuestos pueden ser liberados por *Trichoderma* en la zona de la rizosfera y estar relacionados con la IRS en las plantas (Shoresh et al., 2010). Aún no se esclarecen y amplían los conocimientos acerca de *Trichoderma* como inductor de resistencia, pero es indiscutible su función en la defensa de las plantas (Martínez et al., 2013).

Acción bio controladora de Trichoderma

En efecto bio supresor de *Trichoderma* fue estudiado en base a diversos mecanismos de acción afectando el crecimiento los hongos patógenos de plantas. Los efectos más importantes son: la competencia por espacio y nutrientes, el mico parasitismo y la antibiosis, quienes actúan directamente contra los hongos patógenos de plantas; además, *Trichoderma* expresa su capacidad de biocontrol al secretar enzimas y producir sustancias inhibitorias (Infante et al., 2009).

Algunas especies dentro del género Trichoderma, expresan comportamientos antagónicos frente a hongos fitopatógenos, lo cual se aprovecha como una acción de control biológico de fitopatógenos. Dentro de los cultivos de cacao agroforestal, la pudrición negra (*Phytophthora* spp.), la escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*) y la moniliasis (*Moniliophthora roreri*), vienen a ser las enfermedades más frecuentes y con un alto efecto negativo en la producción de cacao. La capacidad antagónica que muestra *Trichoderma* spp., se basa en la competencia, antibiosis y mico parasitismo. El mico parasitismo está relacionado con la producción de enzimas extracelulares como quitinasas, celulasas, β-1-3-glucanasas y proteasas que destruyen las paredes de los hongos como *Moniliophthora roreri*. Asimismo, *Trichoderma* spp. tiene la capacidad de reducir el crecimiento de otros hongos y bacterias a través de la elaboración y excreción de varios metabolitos secundarios volátiles y no volátiles. Asimismo, *Trichoderma* spp. puede elaborar reguladores de crecimiento y estimular la división, diferenciación y crecimiento celular en la planta en forma de una sustancia elicitora. Las especies de Trichoderma actualmente comercializadas como un agente de control biológico, promotor de crecimiento y biofertilizante son: *T. viride*, *T. polysporum* y *T.*

harzianum. Las especies *T. virens* y *T. harzianum* son ampliamente utilizados como bio controladores contra *M. roreri*, *Phytophthora spp*., y *M. perniciosa* en sistemas de producción de cacao, demostrándose óptimos resultados de control de dichas enfermedades (López et al., 2017).

En el presente trabajo, se empleó el producto comercial SUM TRI cuyas características son:

Ingrediente activo. *Trichoderma viride, T. harzianum*

Uso. Fungicida biológico

Formulación. Polvo mojable (PM)

Composición. *T. viride*, *T. harzianum* 3.1×10^{10} esporas/gramo

Toxicidad. No es toxico para humanos, no influencia negativamente en el ecosistema; no contamina el aire, agua ni suelo. Es inocuo a la fauna y organismos benéficos

Modo de acción. Como agente de biocontrol, preventivo. Si no hubo ataque, la planta estará preparada y protegida para impedir la infección fungosa

Compatibilidad. Es compatible con la mayoría de los productos insecticidas y nutricionales del mercado. Como norma general, no debe aplicarse fungicidas químicos dos semanas anteriores y posteriores a la aplicación del producto

II. MATERIALES Y METODOS.

2.1. Tipo de investigación

El nivel de la investigación es experimental, porque se manipuló las variables independientes (aplicaciones de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma spp*.), y se midieron las variables dependientes (Incidencia y escala de abundancia de *Moniliophthora roreri,* y numero de mazorcas sanas) (Hernández *et al.,* 2010).

La investigación por su naturaleza es aplicada, porque existen bases teóricos relacionados (Hernández et al., 2010)

2.2. Ubicación

El trabajo de tesis se desarrolló en un campo de cultivo de cacao con 6 años de instalado, el cual corresponde al clon CCN 51, ubicado en el caserío Centro Yurac, del distrito de Padre Abad - Aguaytía, el cual presenta las coordenadas UTM 18L 8997459 N - 0444106 E.

2.3. Duración del experimento

La investigación tuvo una duración de 7 meses, iniciándose en el mes de junio, concluyendo en diciembre del 2022.

2.4. Ecología y clima

El clima de la región Ucayali se caracteriza por ser cálido y húmedo, con una temperatura media anual de 26,9 ºC, con muy poca variación entre las máximas (30,5 ºC) y mínimas (17,4 ºC) durante el año. El promedio de horas sol varía notablemente, siendo julio, agosto y setiembre las mayores radiaciones solares registradas; los meses de mayor precipitación con menor cantidad de horas sol son octubre a marzo. La precipitación anual es de 1773 mm (promedio de 25 años), con una distribución que incluye un periodo seco en los meses de junio, julio y agosto (Aybar et al., 2017).

Tabla 2. Precipitación durante el año 2022 periodo que incluye el del trabajo de investigación

Meses	TEMPERATURA MÁXIMA	TEMPERATURA MÍNIMA	HORA SOL	PRECIPITACIÓN ACUMULADA (mm)
Enero	31.12	22.62	2.80	555.6
febrero	29.72	21.99	2.23	429.6
marzo	29.97	22.25	2.55	544.6
abril	30.75	22.18	3.60	194
mayo	31.05	21.58	4.27	294.7
junio	31.37	20.72	6.20	240.2
julio	32.61	22.33	6.79	174.8
agosto	31.31	20.89	5.80	331.6
setiembre	32.91	22.78	5.18	77
octubre	31.84	22.42	4.94	358.6
noviembre	31.82	22.36	5.10	274.2
diciembre	29.79	22.20	2.53	508.7

Fuente: SENAMHI – Estación Aguaytía.

En la tabla 1 podemos apreciar que durante el trabajo de investigación (junio a diciembre), se tuvo una precipitación de 1965 mm; y en todo el año, 3983.6 mm, siendo los más bajos en los meses de junio, julio, setiembre y noviembre.

2.5. Materiales y equipos

2.5.1. Materiales

Material vegetal

- Plantación de cacao correspondiente al clon CCN 51 de 6 años de instalado

Materiales de campo

- Etiquetas de metal
- Jarras medidoras de plástico
- Probetas de plástico
- Baldes de 5 litros
- Tijeras de podar

Equipos

- Balanza gramera
- Bomba de mochila de 20 litros

Reactivos

- Producto a base de *Trichoderma spp*.
- Producto a base de *Bacillus subtilis*
- Aceite agrícola orgánico a base de aceite de soya

2.6. Variables

2.6.1. Identificación de las variables.

Tabla 3. Variables, tratamientos e instrumentos de medida

Variables	**Tratamientos:**	Dosis
Independientes		**Concentraciones:**
	-Testigo (T1)	Sin tratamiento
Controladores	*-Trichoderma spp*.(T2)	100 gr/20 litros
biológicos	*-Bacillus subtilis.* (T3)	100 ml/20 litros
	-B. subtilis + T. spp (T4)	100 ml/20 litros + 100 gr/20 litros
Dependientes	**Indicadores**	**Instrum. de medida**
-Incidencia	Porcentaje de incidencia	Cálculo
-Escala de abundancia	Escala de abundancia	Cálculo
Rendimiento	No de mazorcas sanas por planta	Conteo
Intervinientes		
Condiciones ambientales del campo de cultivo	Temperatura máxima, mínima y media	Termohidrómetro
	Humedad relativa	
	Precipitación pluvial	Pluviómetro

2.6.2. Operacionalización de las variables.

Porcentaje de Incidencia. (Murrieta y Palma, S.f.)

- Se evaluaron 12 plantas de cacao/ tratamiento en cuatro repeticiones.

- Las evaluaciones se realizaron cada 15 días; durante los meses de setiembre a diciembre del 2022. Teniendo siete evaluaciones en total, las cuales se realizaron al día siguiente de cada aplicación.
- En cada planta evaluada, se contó el número total de mazorcas, el número de mazorcas sanas y el número de mazorcas afectadas por la Moniliasis.
- Para determinar el porcentaje de Incidencia por planta, se aplicó la siguiente fórmula:

% de Incidencia = (N° de mazorcas afectadas x 100/N° total de mazorcas evaluadas)

Moniliasis: Escala de abundancia.

La escala de abundancia se determinó de la siguiente manera:

EA de moniliasis por parcela = A la sumatoria total de mazorcas con síntomas visibles de la enfermedad encontradas por parcela/ N° de plantas evaluadas.

2.7. Procedimientos

2.7.1. Historia del campo

El trabajo de investigación fue instalado una plantación de cacao de 6 años de establecida, compuesto por plantas correspondientes al clon CCN 51 a un distanciamiento de 3 x 3 m. La plantación actualmente, está siendo conducida de manera tradicional (podas, remoción de frutos enfermos y control eventual de malezas, escasa o nula fertilización), en las cuales no se ha realizado la aplicación de ningún producto agroquímico par el control de las enfermedades del cacao.

2.7.2. Limpieza y podas del área experimental

Para la limpieza del área experimental, se procedió a eliminar las malezas, con la ayuda de moto guadañas.

Asimismo, la poda de mantenimiento, se realizó en el mes de junio del 2022, se eliminaron ramas enfermas y secas; removiéndose también las plantas parásitas.

2.7.3. **Demarcación del área experimental**

Se demarcó la disposición de los tratamientos y sus repeticiones, de acuerdo al diseño de campo, el cual estuvo constituido por 4 tratamientos y 4 repeticiones, distribuidos en forma aleatoria (ver figura 9).

2.7.4. Designación de tratamientos y repeticiones

Se asignó al azar, los tratamientos y sus repeticiones de acuerdo al croquis de campo (ver figura 9 y 10), los cuales fueron identificados a través de letreros y etiquetas de metal.

Las unidades experimentales estuvieron distribuidas de acuerdo al croquis de ubicación de los tratamientos en los cuales x = bordes, es decir, plantas no evaluadas y x = parcela neta, o plantas a evaluar.

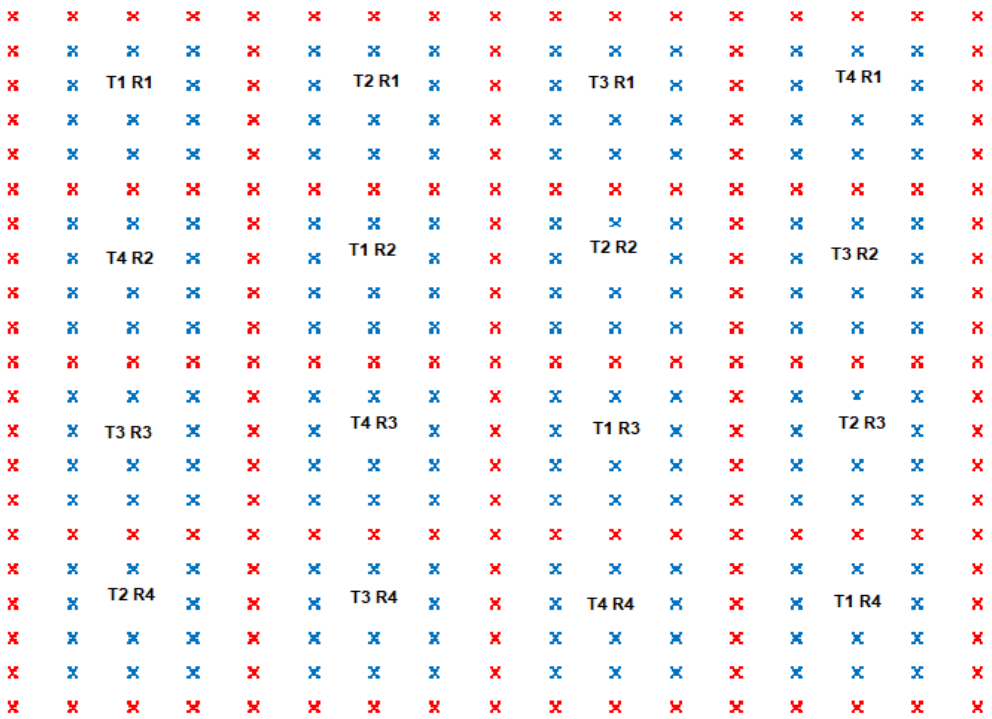


Figura 9. Croquis de ubicación de los tratamientos.

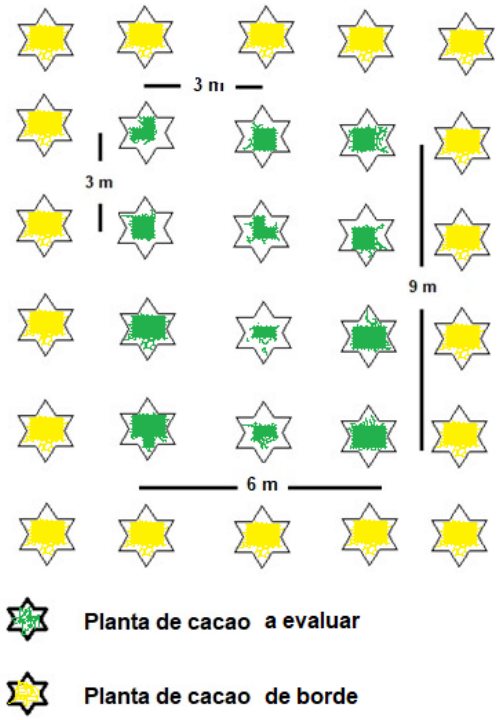


Figura 10. Diseño de la unidad experimental.

2.7.5. **Aplicación de los tratamientos a estudiar**

Se utilizó los siguientes productos:

- TriSun® a base de *Trichhoderma viride* y *Trichoderma harzianum*, polvo mojable, a una concentración de 1 x 10^8 ufc/g, producido y distribuido por la empresa FDP S.A.C. (ver anexo N° 17).
- Biosafe® a base de *Bacillus subtilis*, solución concentrada, a una concentración de 2.5 x 10^9 ufc/ml, producido y distribuido por la empresa PBA (Productos Biológicos para la Agricultura) (ver anexo N°16).
- Super Oil® aceite agrícola vegetal a base de soya, producido y distribuido por la empresa Coagricola Garay S.R.L. (ver anexo N°15).

Para la preparación de los tratamientos, se aseguró que el agua no contenga cloro, ya que se utilizó agua de pozo; asimismo, el agua tuvo un pH de 5,8 a 7, el cual se midió con un peachimetro de bolsillo.

Para la aplicación de *Trichoderma* spp., se procedió a pesar 100 g de producto en una balanza gramera, para luego disolverlo en un balde de 5 litros con agua limpia sin cloro, al cual se le agregó 100 ml de aceite agrícola orgánico a base de soya, dejándolo hidratar por 2 horas. Luego se depositó el contenido del balde a la bomba de mochila y se completó a 20 litros de capacidad, para su aplicación en los tratamientos correspondientes.

Para la aplicación de *Bacillus subtilis*, se procedió a medir 100 ml de producto con la ayuda de una probeta de plástico, para luego disolverlo en un balde de 5 litros con agua limpia sin cloro, al cual se le agregó 100 ml de aceite agrícola orgánico a base de soya, dejándolo hidratar por 2 horas. Luego se depositó el contenido del balde a la bomba de mochila y se completó a 20 litros de capacidad, para su aplicación en los tratamientos correspondientes.

Para la aplicación de la combinación de *Trichoderma* spp. y *Bacillus subtilis*, se procedió a pesar 100 g de TriSun que contiene *Trichoderma* en una balanza gramera y a medir 100 ml de Biosafe que contiene *Bacillus subtilis* con la ayuda de una probeta de plástico, para luego disolver los productos medidos en un balde de 5 litros con agua limpia sin cloro, al cual se le agregó 100 ml de aceite agrícola orgánico a base de soya, dejándolo hidratar por 2 horas. Luego se depositó el contenido del balde a la bomba de mochila y se completó a 20 litros de capacidad, para su aplicación en los tratamientos correspondientes.

Para la aplicación de los tratamientos se utilizó una bomba de mochila manual, de tal forma que se pueda localizar la aplicación de los tratamientos dentro de las unidades experimentales.

Las aplicaciones se realizaron en las tardes, a partir de las 4 pm, para que los microorganismos beneficios se adapten a la planta durante la noche y se evite el efecto del sol.

Durante la aplicación de los tratamientos, se tuvo en cuenta que la aspersión se realice hasta una altura de 1.8 m de altura, cubriendo los tallos y las ramas principales y los frutos que se están formando sobre ellas, los mismos que serán objeto de evaluación.

2.7.6. Frecuencia de aplicación

Las aplicaciones se realizaron cada 15 días, de acuerdo a la máxima producción de frutos susceptibles, los cuales se dio en los meses de setiembre a diciembre, por lo cual se realizó 8 aplicaciones.

2.7.7. Evaluación de incidencia y porcentaje de abundancia

Se realizó la evaluación de mazorcas en sus diferentes estados de desarrollo, sanas y afectadas por Moniliasis planta por planta en la unidad experimental.

El conteo de las mazorcas sanas y mazorcas afectadas fueron registradas en la ficha de evaluación. Estos datos se utilizaron para calcular los porcentajes de incidencia y escala de abundancia de la Moniliasis en el campo experimental.

La frecuencia de evaluación fue quincenal.

2.8. Población y muestra

Población: La población estuvo compuesta por 357 plantas que comprendió el área experimental. Mientras que, la muestra estuvo compuesta por 192 plantas que constituyen el número total de plantas de las 16 parcelas netas, cada una con 12 plantas.

2.9. Diseño estadístico

Se empleó un Diseño Estadístico Completamente al Azar, con 4 tratamientos y 4 repeticiones por tratamiento, en los cuales, cada repetición estuvo conformada por 12 plantas.

Los datos se analizaron con el software SPSS, utilizando la prueba de varianza ANOVA y las diferencias entre las medias se determinarán mediante la prueba de promedios de Tukey ($P \leq 0,05$).

El modelo estadístico del diseño experimental es el siguiente:

$$\mathbf{Yij = U + Ti + Eij}$$

Dónde:

Yij = Variable respuesta

U = Media general

Ti = Efecto del i – esimo tratamiento

Eij = Efecto del error experimental

Tabla 4. Esquema del análisis de varianza

F.V.	G.L.
Tratamiento	03
Error	12
Total	15

Tratamientos

Tabla 5. Tratamientos estudiados.

Tratamiento	Descripción	Repeticiones
1	Testigo	4
2	Aplicación de *Trichoderma* spp.	4
3	Aplicación de *Bacillus subtilis*	4
4	Aplicación de *Trichoderma* spp. + *Bacillus subtilis*	4

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1. Evaluación de mazorcas sanas.

Al efectuar el análisis de variancia para evaluación de mazorcas sanas por planta, se determinó que existen diferencias significativas entre los tratamientos estudiados (ver anexos).

Tabla 6. Numero de mazorcas sanas por evaluación.

Trat	Descripción	Eval 1	Eval 2	Eval 3	Eval 4	Eval 5	Eval 6	Eval 7
1	Testigo	1,675 c	1,6 c	1,8 c	1,47 d	1,5 b	1,45 b	1,2 c
2	Aplic. *Trichoderma* sp.	2,8 b	2,725 ab	2,57 b	2,57 b	2,67 a	2,7 a	2,72 a
3	Aplic. *Bacillus subtilis*	2,575 b	2,5 b	2,3 b	2,02 c	2,35 ab	1,9 b	1,9 b
4	Aplic. *Trichoderma* sp + *Bacillus subtilis*	3,725 a	3,05 a	3,07 a	3,3 a	3,17 a	3 a	2,9 a

*Letras iguales no son significativamente diferentes.

La tabla 6 muestra los resultados de la prueba de promedios de Tukey, para las siete evaluaciones realizadas, en los cuales, se demuestra que el tratamiento con aplicación de *Trichoderma* spp + *Bacillus subtilis*, logro el mayor número de mazorcas de cacao sanas por planta, mostrando diferencias significativas con respecto a los otros tratamientos, asimismo, se muestra que los tratamientos con aplicaciones de *Trichoderma* spp y *Bacillus subtilis* de forma separada, presentan respuestas similares, siendo el tratamiento testigo el que presento el menor número de mazorcas de cacao sanos por planta, como se muestra en la siguiente figura.

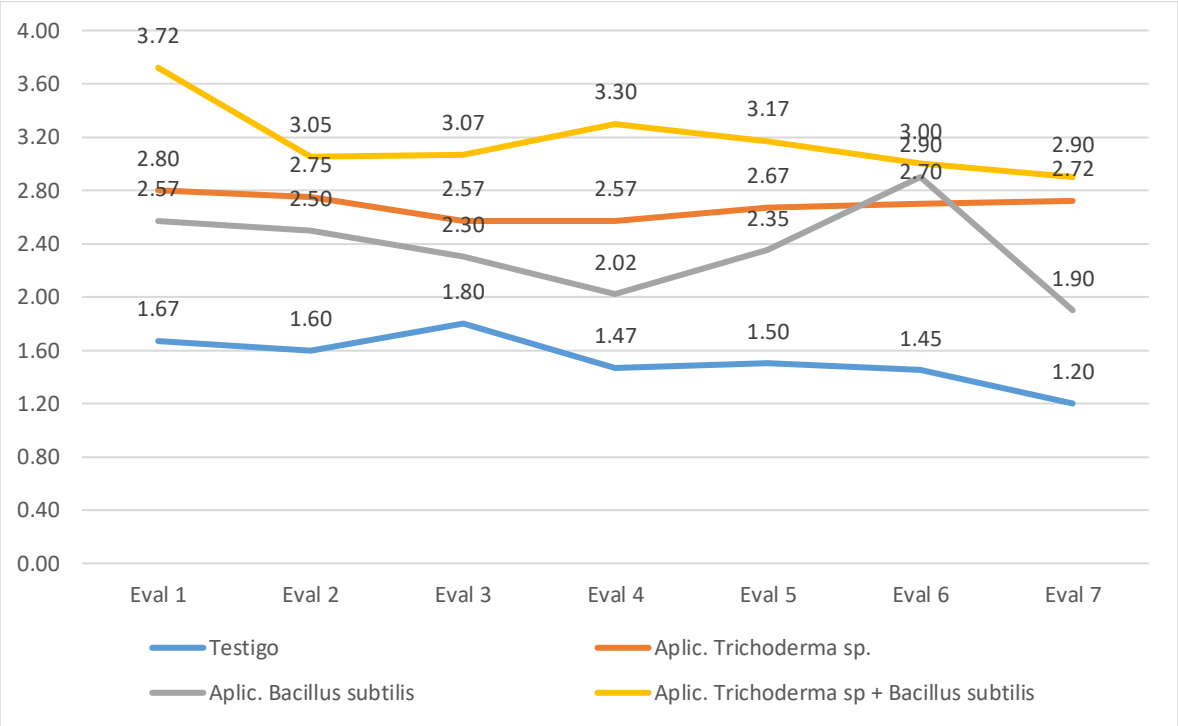


Figura 11. Curva de numero de mazorcas sanas por evaluación.

Al respecto, Illa et al. (2020) evaluó el efecto de biocontrol y promoción de crecimiento de *Trichoderma harzianum* CT306 y *Bacillus subtilis* CT104, inoculadas en maní, bajo condiciones controladas y campo, para el control de *Aspergillus flavus*, *Fusarium* sp., *Sclerotinia minor* y *Thecaphora frezzi*, observándose que en plantas de 60 días de sembrado, no se observó presencia de *A. flavus* y *Fusarium* sp. al aplicar los biológicos solos y combinados; mientras que la inoculación conjunta de *T. harzianum* y *Bacillus* generó ausencia de *S. minor* y baja incidencia de *T. frezzi*. En condiciones de campo, los tratamientos biológicos aumentaron el porcentaje de emergencia (37%) y al final del ciclo se registró reducción del 14% de la incidencia de *T. frezzi*, aumento de biomasa (27%), rendimiento (46%) y tamaño de grano (34%) respecto al testigo. Segùn Larriba (2018) mencionan que *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* se les considera como promotores del crecimiento vegetal, como estimuladores de la asimilación de los fertilizantes presentes en el suelo, generando efectos benéficos sobre el crecimiento de las plantas, siendo estas afirmaciones concordantes con los efectos obtenidos en los tratamientos de aplicación de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* y su combinación al obtener los mejores promedios de mazorcas sanas en comparación al testigo.

3.2. Evaluación de la Escala de abundancia.

Al efectuar el análisis de variancia de los resultados de la evaluación de escala de abundancia de Moniliasis por fechas, se determinó que existen diferencias significativas entre los tratamientos estudiados (ver anexos).

Tabla 7. Resultados del ANVA de la escala de abundancia de Moniliasis por fechas.

Trat	Descripción	Eval 1	Eval 2	Eval 3	Eval 4	Eval 5	Eval 6	Eval 7
1	Testigo	2,22 a	2,07 a	2,22 a	1,7 a	2 a	1,87 a	1,67 a
2	Aplic. *Trichoderma* sp.	1,07 b	0,95 bc	1,15 b	1,22 b	1,52 b	1,17 b	0,82 bc
3	Aplic. *Bacillus subtilis*	1,25 b	1,2 b	1,45 b	1,8 a	1,32 b	0,87 bc	1,27 ab
4	Aplic. *Trichoderma* sp + *Bacillus subtilis*	0,52 c	0,57 c	0,47 c	0,35 c	0,62 c	0,7 c	0,65 c

*Letras iguales no son significativamente diferentes.

La tabla 7 muestra los resultados de la prueba de promedios de Tukey, para las siete evaluaciones realizadas, en los cuales, se demuestra que el T1 testigo, presento la mayor escala de abundancia de Moniliasis por fechas, mostrando diferencias significativas con respecto a los otros tratamientos; asimismo, se muestra que los T2 y T3 con aplicaciones de *Trichoderma* sp y *Bacillus subtilis* aplicados en forma separada, presentan respuestas similares, siendo el T4 donde se aplicaron mezcla de *Trichoderma* sp + *Bacillus subtilis* el que presento la menor escala de abundancia de la enfermedad, como se muestra en la siguiente figura.

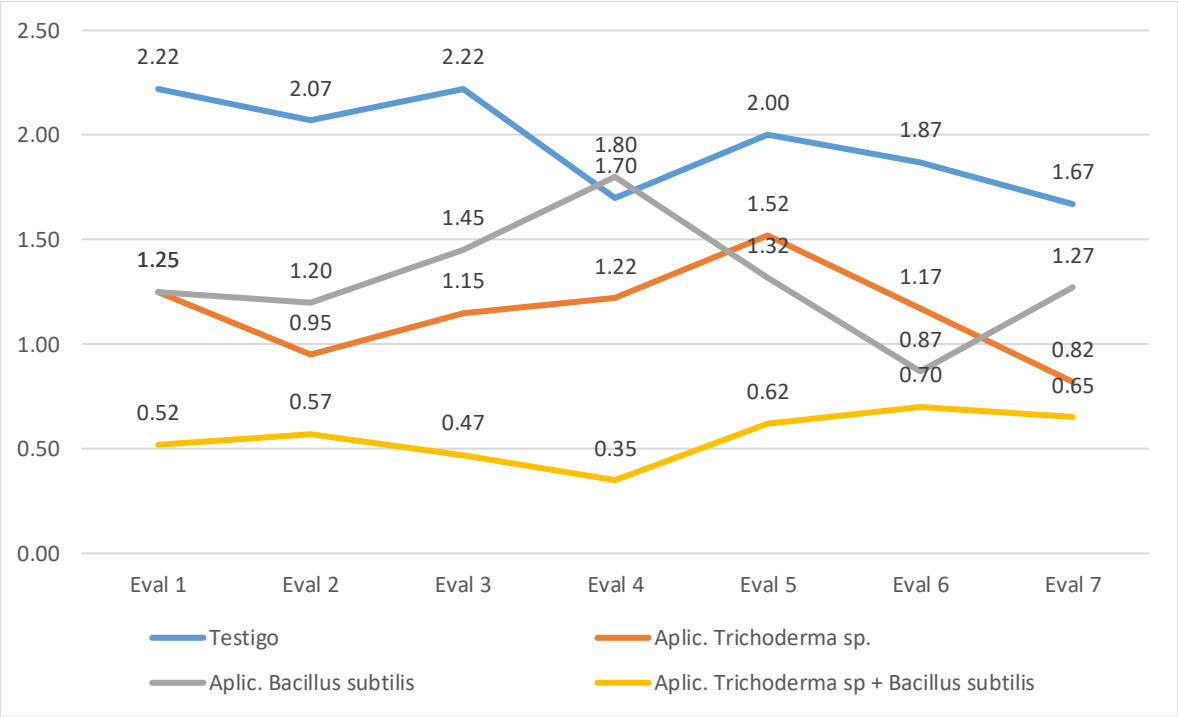


Figura 12. Escala de abundancia de Monilia por fechas de evaluacion.

Al respecto, Hidalgo (2016) menciona que la aplicación de dos controladores biológicos (*Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis*) frente a un testigo químico en el cultivo de fresa (*Fragaria vesca* L) variedad Albión, para el control de podredumbre gris (*Botrytis cinerea*), se concluye que, el producto químico (Iprodione) demostró ser el más efectivo, neutralizando la incidencia de la acción patogénica de *Botrytis cinerea* cuyo porcentaje de incidencia fue de 0,00% a la cuarta aplicación. El tratamiento con *Trichoderma harzianum* al 125% demostró ser el más efectivo, neutralizando por completo la severidad de ataque de *Botrytis cinerea*, cuyo porcentaje de severidad fue de 0,00% a la cuarta aplicación. Asimismo, Zambrano (2021) evaluó la aplicación del *Bacillus subtilis* como protector de enfermedades en el cultivo de pepino (*Cucumis sativus*), probándose a: T1 (*Bacillus subtilis* 0.5 l/ha), T2 (*Bacillus subtilis* 1 l/ha), T3 (*Bacillus subtilis* 1.5 l/ha), T4 (*Bacillus subtilis* 2 l/ha) y T5 Testigo, demostrándose que el tratamiento 4 obtuvo un rendimiento estadísticamente alto a diferencia de los demás tratamientos kg/ha (33565,1). Villamil et al (2015) investigo la actividad antagónica de dos aislamientos autóctonos de *Trichoderma* sp. y uno de *Bacillus* sp. contra *M. roreri*, en condiciones de campo, mostrando una disminución de la severidad del daño en los

frutos del 19,5 a 11,2% en el T1; del 28 a 19,5% en el T2 y del 13,5 y 8,5% en el T3, respectivamente con diferencias estadísticas a favor del T2. Concluyéndose que entre los tres antagonistas evaluados, el hongo *Trichoderma* spp. tuvo el mayor potencial para el control de la moniliasis del cacao en condiciones de campo. Estos antecedentes concuerdan con los resultados obtenidos en la presente investigación, ya que se demuestra el efecto controlador de las aplicaciones de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* aplicado en forma independiente y, sobre todo la capacidad sinérgica de la aplicación de ambos antagonistas en combinación frente al efecto de *M. roreri* en las mazorcas del cacao.

3.3. Evaluación del porcentaje de Incidencia.

Al efectuar el análisis de variancia del porcentaje de incidencia de Moniliasis, se determinó que existen diferencias significativas entre los tratamientos estudiados (ver anexos).

Tabla 8. Evaluación del porcentaje de Incidencia de Moniliasis por fechas.

Trat	Descripción	Eval 1	Eval 2	Eval 3	Eval 4	Eval 5	Eval 6	Eval 7
1	Testigo	55,25 a	54,6 a	55,55 a	53,7 a	56,67 a	55,92 a	56,85 a
2	Aplic. *Trichoderma* sp.	24,82 b	23,85 b	29,4 b	29,05 c	35,4 b	28,6 b	20,67 c
3	Aplic. *Bacillus subtilis*	31 b	28,4 b	34,97 b	46,65 b	41,75 b	27,5 b	41,32 b
4	Aplic. *Trichoderma* sp + *Bacillus subtilis*	10,97 c	12,425 c	10,67 c	8,17 d	14,15 c	16,15 c	16,87 c

*Letras iguales no son significativamente diferentes.

La tabla 8 muestra los resultados de la prueba de promedios de Tukey, para las siete evaluaciones realizadas, del porcentaje de incidencia por fechas; en los cuales, se demuestra que el tratamiento testigo, presento la mayor porcentaje de incidencia de Moniliasis en todo el periodo de evaluación; mostrando diferencias significativas con respecto a los otros tratamientos; el mejor tratamiento resulto ser el T4 (aplicación de la mezcla de Trichoderma y Bacillus que presento el 13 % de incidencia (tabla 8), seguido del T2 con 27% y *Bacillus subtilis* con el 36% de Incidencia, como se muestra en las tablas 6, 7 y fig. 13.

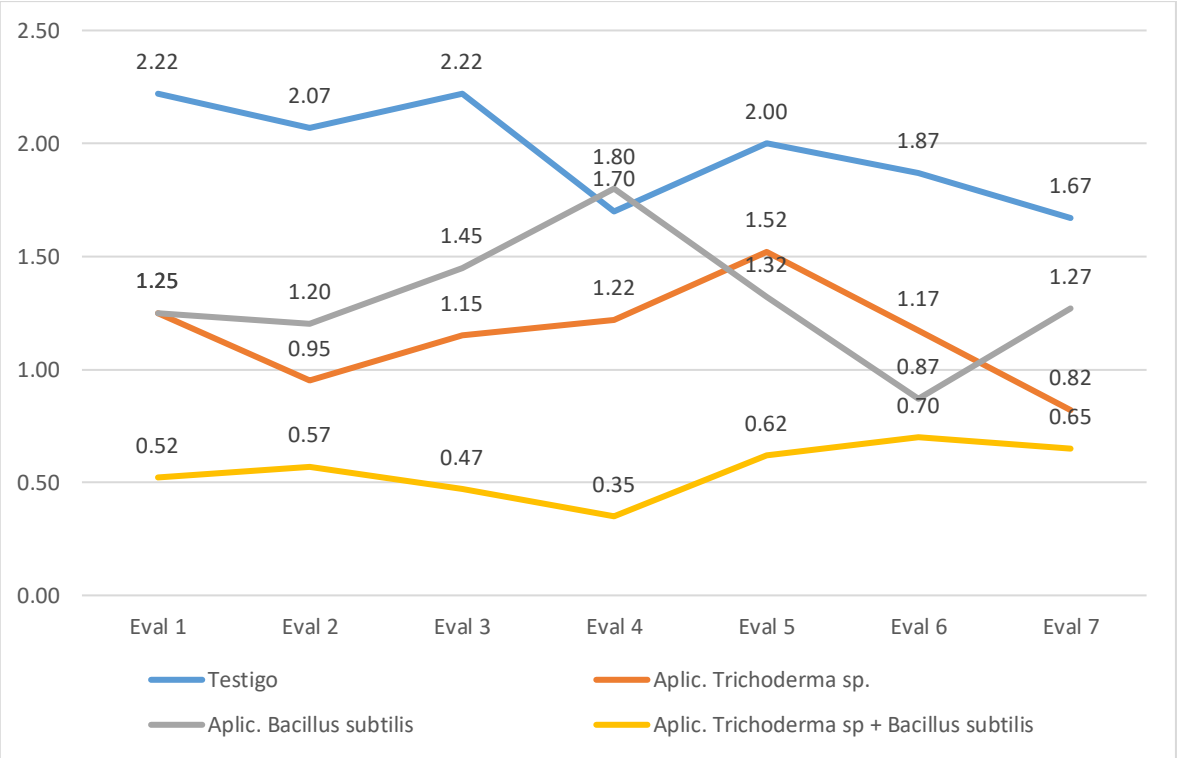


Figura 13. Incidencia de Monilia por planta.

Al respecto, Villares (2020) aplico *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis* contra Fusarium y Mancha foliar en ají (*Capsicum annuum*), obteniendo resultados significativos en el control de Fusarium y Mancha foliar, elevando el rendimiento (2467,00 kg). Por otro lado, Cosinga (2021) evaluó el efecto de la aplicación de *Bacillus subtilis*, *Lecanicillium lecanii* y *Trichoderma* spp. contra *Hemileia vastatrix* en cultivo de café en zona de Pangoa, obteniendo que, después de la primera evaluación, *Trichoderma* spp (aérea y suelo) presentó menor incidencia (34.67%). En segunda evaluación, se observó que, la aplicación de *Lecanicillium lecanii* (aérea) y *Trichoderma* spp. (suelo) redujo la incidencia a 34.33% y en tercera evaluación incrementó ligeramente a 35%. En cuanto a la severidad, la aplicación conjunta de *Lecanicillium lecanii* (aérea) y *Trichoderma* spp. (suelo), presentó el menor grado 0.93 de severidad, seguido por *Lecanicillium lecanii* (aérea) con 1.2 % y *Trichoderma* spp. (aérea y suelo) que registró 1.27 % de severidad. El testigo presentó 4.7 % de severidad, siendo estos antecedentes concordantes con los resultados obtenidos, en las cuales se demuestra la acción supresora de los

antagonistas *Trichoderma* sp y *Bacillus subtilis* contra *M. roreri* en mazorcas de cacao.

3.4. Evaluación del total de mazorcas sanas, escala de abundancia y porcentaje de incidencia de Moniliasis.

Al efectuar el análisis de variancia para evaluación del total de mazorcas sanas, escala de abundancia y porcentaje de incidencia de Moniliasis, se determinó que existen diferencias significativas entre los tratamientos estudiados.

Tabla 9. Análisis del ANVA del total de mazorcas sanas, escala de abundancia y porcentaje de incidencia de Moniliasis.

Tratamientos	Descripción	Total mazorcas sanas	Total escala de abundancia	Total porcentaje de incidencia
1	Testigo	10,65 d	13,75 a	55,47 a
2	Aplic. *Trichoderma* sp.	18,75 b	7,82 c	27,4 c
3	Aplic. *Bacillus subtilis*	15,52 c	9,17 b	35,92 b
4	Aplic. *Trichoderma* sp + *Bacillus subtilis*	22,17 a	3,87 d	12,8 d

*Letras iguales no son significativamente diferentes.

La tabla 9 muestra los resultados de la prueba de promedios de Tukey, para el total de mazorcas sanas, escala de abundancia y porcentaje de incidencia de Moniliasis por tratamiento; en este, se observa que, el T4 con aplicación de *Trichoderma* sp + *Bacillus subtilis* presento el mayor número de mazorcas sanas (22.7 Mz); mostrando diferencias significativas con respecto a los tratamientos T2 (18.75 Mz) y T3 (15.52 Mz) y altamente significativo, con el T1, testigo (10.65 Mz)., que presento el menor numero de mazorcas sanas por tratamientop

Para el total de escala de abundancia, el tratamiento testigo presento la mayor escala de abundancia (EA), es decir el mayor número de Mz enfermas por tratamiento (13.75) Mz. el mayor número de mazorcas enfermas con Moniliasis, mostrando diferencias significativas respecto a los tratamientos T2 (con 7.82 Mz), y el T3 (con 9.19 Mz); mostrando diferencias significativas con respecto al tratamiento con aplicación de *Trichoderma* sp. Los tratamientos T2 y T3 muestran diferencias significativas con respecto al tratamiento con aplicación de *Trichoderma* sp + *Bacillus subtilis*, el cual presento la menor EA de Moniliasis. Para el total de porcentaje de incidencia (I), el tratamiento testigo logró el mayor porcentaje de incidencia de Moniliasis (55.47 %), mostrando diferencias significativas con respecto a los T2 (con 27.4 %) y T3 (con 35.92 %)., sin embargo, con el T4 con aplicación de *Trichoderma* sp + *Bacillus subtilis*, (con 12.8 % de I), las diferencias fueron altamente significativas. como se muestra en la siguiente figura.

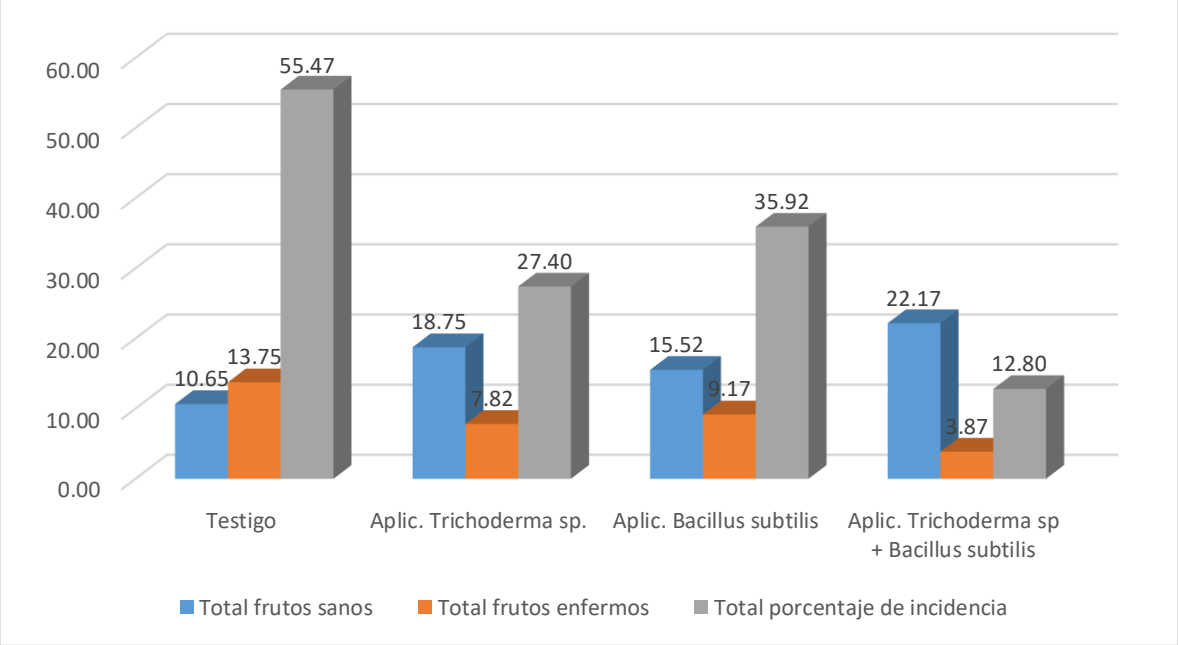


Figura 14. Resultados promedios del total de frutos sanos, escala de abundancia y porcentaje de incidencia de Moniliasis.

Al respecto, Castro (2022) estudio la importancia de *Bacillus subtilis* en el control de *Phytophthora palmivora* y *Moniliophthora roreri* en mazorcas de cacao, reconociéndose que el principal mecanismo de acción de *B. subtilis* contra los patógenos *M. roreri* y *P. palmivora*, se da por la elaboración de sustancias tipo lipopéptidos como sulfactina, iturina y fengicinas, siendo *B.*

subtilis quitinolítico; es decir, actúa sobre la quitina compuesto principalde la pared celular de los hongos.

La aplicación de *B. subtilis* QST 713 (2 L/ha, 10 cc/L de agua), alternado con *B. pumilus* estrés QST 2808 (2 L/ha, 10 cc/L de agua), presento' la mayor eficacia de control de *P. palmivora*, por lo que se recomienda esta aplicación en las plantaciones de cacao. Gonzales y Soto (2021) evaluaron el efecto inhibidor de dos extractos obtenidos de plantas frescas de *Zingiber officiale* (T1), *Aloe vera* (T2) y *Trichoderma* sp.+ *Bacillus subtilis* (T3), sobre la infección por *Moniliophthora roreri* en el cacao, demostrándose que, los T1, T2 y T3 mostraron una incidencia de infección por moniliasis del 20,5%, 17,7% y 14,9% respectivamente, en comparación con el control cultural del 41,1%, siendo el tratamiento de organismos antagónicos el que presento menor incidencia de infección.

Asimismo, Gonzales et al. (2022) menciona que, la provisión de alimentos requiere, en la actualidad, de nuevas herramientas que ayuden a incrementar la productividad de los cultivos sin impactos negativos al medio ambiente. La rizósfera de las plantas, es la parte del suelo influenciada por las secreciones de las raíces, su alta actividad microbiana alberga diferentes microorganismos con importantes aplicaciones agrícolas, que pueden ser utilizados en el desarrollo de productos que contribuyan a enfrentar los retos de la agricultura actual, tal es el caso de la bacteria *Bacillus subtilis* y diferentes especies de hongos del género *Trichoderma*, los cuales han sido ampliamente estudiados y utilizados por ser benéficos para las plantas y como herramientas amigables con los agroecosistemas que ayude a lograr la producción de alimentos, sin recurrir a insumos químicos, lo cual redundará en mejores cosechas, de mejor calidad, y de mayor rendimiento, que beneficiara a los agricultores cacaoteros.

IV. CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos propuestos, se concluye que:

- El T4 aplicación combinada de *Trichoderma sp* + *Bacillus subtilis*, ofreció el mejor control de la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) con el menor porcentaje de incidencia (12.8%), la menor escala de abundancia (3.87 Mz) y el mayor número de mazorcas sanas.
- Los tratamientos T2 (aplicación de *Trichoderma sp*) y T3 (aplicación de *Bacillus subtilis*) en forma independiente, redujeron la enfermedad, pero no superaron el efecto del T4 que fue la aplicación combinada de ambos bio controladores. como se muestra en la tabla 7.

V. RECOMENDACIONES.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se sugiere:

- Realizar aplicación combinada de *Trichoderma* sp + *Bacillus subtilis* para el control de Moniliasis (*Moniliophthora roreri*), en el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.) en Aguaytía.
- Realizar estudios sobre el efecto de métodos de control cultural como la fertilización, podas fitosanitarias, y reducción de sombra y aplicación combinada de *Trichoderma* sp + *Bacillus subtilis* para el control de la Moniliasis (*Moniliophthora roreri*), en el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.) en Aguaytía.

VI. LITERATURA CONSULTADA.

Acebo, Y., Hernández, A.; Heydrich, M.; El Jaziri, M.; Hernández, A.N. 2012. Management of black pod rot in cacao (*Theobroma cacao* L.): a review. Fruits 67(1): 41-48.

Agrios, G. 2005. Plant Pathology. 5th Ed. Publishing, Elsevier Academic Press Publication. United States of America p 453-635.

Albuquerque, P.S.B.; Bastos, C.N.; Luz, E.D.M.N.; Silva, S.D.V.M. 2005. Doenças do cacaueiro (*Theobroma cacao*). Em: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A; Camargo, L.E.A. (Eds.) Manual de Fitopatologia. p. 151-163. Vol. 2 (4ta Ed.). Livroceres, Piracicaba, Brasil.

Amores, F.; Agama, J.; Suárez, C.; Quiroz, J.; Motato, N. 2009a. EET 575 y EET 576 nuevos clones de cacao nacional para la zona central de Manabí. Boletín divulgativo N 346. Estación Experimental Tropical "Pichilingue". Quevedo, Ecuador. 28 p.

Arévalo-Gardini, E., Zúñiga-Cernales, L. 2004. Manejo integrado del cultivo de cacao y transferencia de tecnología en la Amazonía peruana CACAO. Instituto de Cultivos Tropicales (ICT), San Martín, Perú.

Batista, L. 2009. Guía técnica: en el cultivo de cacao. Santo Domingo, RD. CEDAF. 185 p.

Benito, J.A. 2010. Investigación en cacao en el Perú. Informe especial N° 02 INIP-CIPA XIII S.M. Tarapoto – Perú. 36 pp.

Bernal, A., C. Andreu, M. Moya, M. González y O. Fernández. 2007. Utilización de *Trichoderma* spp. como alternativa ecológica para control de *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp cubense (E.F. Smith) Snyd & Hans. Fitosanidad 83: 26-29.

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, Mariana Camargo Lourenco and cols., International Journal of Poultry Science 11 (10): p 630-634.

Castro Junco, L.A. 2022. *Bacillus subtilis* en el control de *Phytophthora palmivora* y *Moniliophthora roreri* en mazorcas de cacao. Trabajo para optar el titulo

de Ingeniero Agrónomo. Universidad Técnica de Babahoyo. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Babahoyo, Los Ríos, Ecuador.

Cerda, R. 2009. La planta de cacao: Distribución eco fisiología – fenología. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Colombia. FEDECACAO. 189 p.

Chávez Vargas, A. 2003. Caracterización de las zonas productoras de cacao en el Perú y su competitividad. Ministerio de Agricultura. Programa para el desarrollo de la Amazonía PROAMAZONIA. Lima, Perú.

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 presentada en opcional Titilo académico de Magister Scientieae en Agricultura Ecológica. Centro Agronómico Tropical de Investigaciones y Enseñanzas.

Correa Álvarez, L.; Castro Martínez, S.; Coy, J. 2014. Estado de la moniliasis del cacao causada por *Moniliophthora roreri* en Colombia. Acta Agronómica. 63 (4) 2014, p 388-399. http://www.scielo.org.co/pdf/acag/v63n4/v63n4a11.pdf

Cosinga Eslava, R. 2021. Efecto de *Bacillus subtilis*, *Lecanicillium lecanii* y *Trichoderma* spp., en control de *Hemileia vastatrix* en *Coffea arabica* en Pangoa. Tesis para optar el título profesional de Ingeniero en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Centro del Perú, Facultad de Ciencias Agrarias.

Cruz, B.S. 1993. Determinación de fuentes de resistencia de cacao de origen nacional al ataque de *Monilia roreri* (Cif. & Par.). Tesis Ing. Agr. Guayaquil, Ecuador. Universidad de Guayaquil. 101 p.

Evans, H. 2007. Cacao diseases – The trilogy revisited. Phytopathology 97:1640-1643.

Evans, H.C.; Holmes, K.A.; Reid, A.P. 2003. Phylogeny of the frosty pod rot pathogen of cocoa. Plant Pathology 52: 476-485.

FHIA (Fundación Hondureña de Investigación Agrícola). 2003. Identificación y control de la moniliasis del cacao. Cortés, Honduras. 24 p.

Hebbar, P. 2007. Cacao diseases: A global perspective from an industry point view. Phytopathology 97(12): 1658-1663.

Hernández, A.; Ruíz, Y.; Acebo, Y.; Miguélez, Y.; Heydrich, M. 2014. Antagonistas microbianos para el manejo de la pudrición negra del fruto en *Theobroma cacao* L. Estado actual y perspectivas de uso en Cuba. Protección Vegetal 29(1): 11-19.

Hernández, R.; Fernández, C.; Baptista, M. 2010. Metodología de la investigación. Quinta edición. Mc Graw-Hill Interamericana Editores SA. México. 613 p.

Hidalgo Trejo, D. X. 2016. *Evaluación de controladores Biológicos: Trichoderma harzianum y Bacillus subtilis, en el cultivo de fresa (Fragaria vesca L) variedad Albión, para el control de podredumbre gris (Botrytis cinerea) en el Centro experimental San Francisco, Cantón Huaca, Provincia del Carchi* (Doctoral dissertation, Universidad Politécnica Estatal Del Carchi).

Howell, C. 2003. Mechanisms employed by Trichoderma species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. Plant Diseases 87(1): 4-10.

ICCO (International Cocoa Organization). 2010. Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics. Disponible en: url: http://www.icco.org. Revisado en Diciembre 2010.

IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura). 2006. Protocolo estandarizado de oferta tecnológica para el cultivo del cacao en el Perú / IICA. Lima, Perú. 73 p.

IICA. 2009. Acuerdo sectorial de la competitividad de la cadena productiva del cacao y su agroindustria. Perú.

Illa, C., Torassa, M., Pérez, M. A., & Pérez, A. A. 2020. Efecto de biocontrol y promoción del crecimiento en maní por Trichoderma harzianum y Bacillus subtilis en condiciones controladas y campo. *Revista mexicana de fitopatología*, *38*(1), 119-131.

Infante, D.; Martínez, B.; Noyma, G. y Yusimy, R. 2009. Mecanismos de acción de Trichoderma frente a hongos fitopatógenos. La Habana, Cuba. Revista, Protección vegetal. 24(1). p. 14-21.

INIA-ITC. 2006. Desarrollo y adopción de tecnologías para mejorar la competitividad de la actividad cacaotera en el Perú. In memorias de taller regional andino de aplicación tecnológica en el cultivo de cacao. Quito-Ecuador.

Johnson, J.; Bonilla, J.; Agüero, L. 2008. Manual de manejo y producción del cacaotero. León, Nicaragua. 40 p.

Lisboa, M. 2003, Efectividad de *Bacillus subtilis* y de una sepa nativa *Trichoderma harzianum* sobre la incidencia de severidad de pudrición gris. Tesis presentada en opcional Título Académico de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Talca, Talca, Chile. p 38.

Lojka, B.; Quiñones, L. 2009. Manual agroforestal para ecosistemas de altura en Ucayali. Asociación Centro de Investigación y Desarrollo Rural Amazónico. Pucallpa, Perú. 197 p.

López Ferrer, U. C.; Brito Vega, H.; López Morales, D.; Salaya Domínguez, J. M.; Gómez Méndez, E. 2017. Papel de *Trichoderma* en los sistemas agroforestales - cacaotal como un agente antagónico. Tropical and Subtropical Agroecosystems, vol. 20, núm. 1, enero-abril, 2017, pp. 91-100 Universidad Autónoma de Yucatán Mérida, Yucatán, México. Disponible en: https://www.redalyc.org/pdf/939/93950595003.pdf

López-Báez, O.; Ramírez-González, S.I.; Espinosa-Zaragoza, S.; Moreno-Martínez, J.L.; Ruíz-Bello, C.; Villarreal-Fuentes, J.M.; González-Mejía, O. 2015. Comportamiento de la moniliasis del cacao causada por *Moniliophthora roreri* (Cif. y Par.) en Tapachula, Chiapas, México. Acta Agrícola y Pecuaria, 1 (1): 16-23 Noviembre 2014-Febrero 2015.

Lozada, B.S.; Herrera, L.V.; Perea, J.A.; Stashenko, E.; Escobar, P. 2012. Efecto in vitro de aceites esenciales de tres especies de *Lippia* sobre *Moniliophthora roreri* (Cif. y Par.) Evans *et al*., agente causante de la moniliasis del cacao (*Theobroma cacao* L.). ACTA AGRONÓMICA. 61 (2) 2012, p 102-110. https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/35491/36145

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

Martínez, B.; Reyes, Y.; D. Infante, D.; González, E.; Baños, H.; Cruz, A. 2008. Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. candidatos a biofungicidas para el control de *Rhizoctonia* sp. en arroz. Protección Vegetal 23(2): 118- 125.

Meléndez, L. 1993. Microambiente, cantidad de esporas en el aire e incidencia del hongo *Moniliophthora roreri* (Cif&Par). Evans et al. Bajo tres sistemas de manejo de sombra leguminosa en cacao (*Theobroma cacao* L). Tesis de Magister Scientiae en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales. Universidad de Costa Rica. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 98 p.

Melnick, R.L; Suárez, C.; Bailey, B.A.; Backman, P.A. 2011. Isolation of endophytic endospore-forming bacteria from *Theobroma cacao* as potential biological control agents of cacao diseases. Biological Control (57)3: 236-245.

Mercedes-Soberanis, L.I. 2009. Control de la "Moniliasis del cacao" *Moniliophthora roreri* (Cif & Par) Evans con *Trichoderma* sp., bajo condiciones de campo en Tingo María. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Facultad de Agronomía. Departamento Académico de Ciencias Agrarias. Tingo María - Perú. Disponible en: http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/83/AGR-526.pdf?sequence=1&isAllowed=y

MINAG. 2010. Producción de cacao en el Perú.

Ministerio de Agricultura (MINAG). 2004. Manual del Cultivo del Cacao. Perú. 5 p.

Ministerio de Agricultura (MINAG). 2011. Condiciones Agroclimáticas del Cultivo del Cacao. Cartilla Nº 13. Perú. 3 p.

Mondino, P.; Silvana, V. 2006. Control biológico de patógenos en plantas. Editorial. Facultad de Agronómica Universidad de la Republica. Montevideo, Uruguay. p 158.

Moreira, R.F.C. 2006. Estrutura genética de populações de *Crinipellis perniciosa* e *Moniliophthora roreri* utilizando marcadores RAPD e SSR. Tese Eng. Agr. São Paulo, Brasil. Universidade Estadual Paulista. 117 p.

Municipalidad distrital de Irazola. 2013. Evaluación de las principales áreas de cacao injertadas mediante apoyo por instituciones públicas y privadas en la zona de san Alejandro. DOC. Base de datos, M.D.I. Ucayali, Pucallpa, Perú.

Murrieta-Medina, E.; Palma-Moscoso, H. S.f. Manejo integrado de la monilia en el cultivo de cacao. USAID.

https://issuu.com/comunicacionesalianzacacaoperu/docs/manual_mip_monilia

Navarro, M.; Mendoza, I. 2006. Cultivo del cacao en sistemas agroforestales. Guía técnica para promotores. Río San Juan, NI. 67 p.

Paredes, M. 2003. Manual del cultivo del cacao.Consultado.19.jun.2017. Perú.

PDA. 2010. Boletín Nº 06: Cultivo de cacao: injertos, poda y fertilización. Proyecto de desarrollo Alternativo –Perú.

Pedraza, L.A.; López, C.E.; Uribe Vélez, D. 2020. Mecanismos de acción de *Bacillus spp*. (Bacillaceae) contra microorganismos fitopátogenos durante su interacción con plantas. Acta biol. Colomb., 25(1):112-125, Enero - Abril 2020. Disponible en: http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v25n1/0120-548X-abc-25-01-112.pdf

Peñaherrera Villafuerte, S.; Cedeño García, G.; Solórzano Alcívar, F.; Cedeño García, G.; Terrero Yépez, P. 2020. Eficacia de mezclas de *Trichoderma* spp. y aceite de palma en el manejo de *Moniliophthora roreri* Cif & Par en cacao. Centro Agrícola, CIAP, UCLV, 2020 | RNPS 2153 | ISSN papel: 0253-5785 ISSN on line: 2072-2001 Centro Agrícola, CIAP, UCLV, 2020 | RNPS 2153 | ISSN papel: 0253-5785 ISSN on line: 2072-2001. Disponible en: http://scielo.sld.cu/pdf/cag/v47n2/0253-5785-cag-47-02-5.pdf

Pérez Vicente, L. 2018. *Moniliophthora roreri* H.C. Evans et al. y *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime: impacto, síntomas, diagnóstico, epidemiología y manejo. Rev. Protección Veg., Vol. 33, No. 1 (enero-abril 2018), ISSN: 2224-4697. http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v33n1/rpv07118.pdf.

Phillips-Mora, W. 2006. La moniliasis del cacao: un enemigo que podemos y debemos vencer. En: Taller regional andino de aplicación tecnológica en el cultivo de cacao. Quevedo, Ecuador. p. 21-25.

Phillips-Mora, W.; Aime, M.C.; Wilkinson, M.J. 2007. Biodiversity and biogeography of the cacao (*Theobroma cacao*) pathogen *Moniliophthora roreri* in tropical America. Plant Pathology 56: 911–922.

PROAMAZONIA (Programa para el Desarrollo de la Amazonía). 2003. Caracterización de las zonas productoras de cacao en el Perú y su competitividad. Lima, Perú. 208 p.

Ramírez Ramírez, J. 2019. Potencial de biocontrol de cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre la moniliasis (*Moniliophthora* sp.) del cacao nativo fino de aroma, de la provincia de Bagua, Amazonas – 2017. Tesis para obtener el título profesional de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional Toribio Rodríguez De Mendoza de Amazonas. Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias. Escuela Profesional de Ingeniería Agrónoma. Chachapoyas – Perú. Disponible en: http://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/UNTRM/1695/Ramirez%20Ramirez%20Jaime.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Reuck, D. 1997. Monilia del cacao. ¿Una amenaza semejante a la escoba de bruja? Revista Café & Cacao: Noticias. 2(1): 1-2.

Robles, R. 2007. Sistemas agroforestales en cacao. Curso de capacitación Instituto de Cultivos Tropicales. ICT. La banda de Shilcayo – Tarapoto.

Rodríguez, J.E.; Velandia, J.; Viteri, S.E. 2010. Evaluación de microorganismos aislados de gallinaza por su potencial para el biocontrol de fusarium (*F. oxysporum*) en plántulas de uchuva (*Physalis peruviana*). Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín 63(2): 5499-5509

Ruiz-Solorzano, J.L. 2017. Evaluación de *Trichoderma harzianum* para el control de *Moniliophthora roreri* en cacao; El Tumbador, San Marcos. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Rafael Landívar. Facultad de Ciencias Ambientales y Agrícolas. Coatepeque. Disponible en: http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesisjcem/2017/06/17/Ruiz-Jose.pdf

Sánchez Mora, F.D.; Garcés-Fiallos, F.R. 2012. *Moniliophthora roreri* (Cif y Par) Evans et al. en el cultivo de cacao. Scientia Agropecuaria 3(2012) 249 – 258. https://www.redalyc.org/pdf/3576/357633703006.pdf

Sánchez, A. 2011. Manual para la producción de un cacao de calidad. Primera edición. Ucayali – Perú. 13 p

Seng, J.; Herrera, G.; Vaughan, Ch.S.; McCoy, M.B. 2014. Use of Trichoderma fungi in spray solutions to reduce *Moniliophthora roreri* infection of *Theobroma cacao* fruits in Northeastern Costa Rica. Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744) Vol. 62 (3): 899-907, September 2014. Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/pdf/rbt/v62n3/a06v62n3.pdf

Shoresh, M., Harman, G.; Mastouri, F. 2010. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. Phytopathology 48: 21-43.

Singh, J.S.; Pandey, V.C.; Singh, D.P. 2011. Efficient soil microorganisms: A new dimension for sustainable agriculture and environmental development. Agriculture, Ecosystems and Environment 140(3-4): 339-353.

Sutherland, J. 2009. Cocoa Project. Disponible en http://www.uq.edu.au/_school_Science_Lessond/cocoaproj.html. Consultado 28/11/12.

Tchameni, S.N.; Ngonkeu, M.E.; Begoude, B.A.; Wakam, L.; Fokom, R.; Owona, A.D.; Mbarga, J.B.; Tchana, T.; Tondje, P.R.; Etoa, F.X.; Kuaté, J. 2011. Effect of *Trichoderma asperellum* and arbuscular mycorrhizal fungi on cacao growth and resistance against black pod disease. Crop Protection 30(10): 1321-1327.

Tiburcio, R.A.; Costa, G.G.L.; Carazzolle, M.F.; Mondego, J.M.C.; Schuster, S.C.; Carlson J.E.; Guiltinan M.J.; Bailey B.A.; Mieczkowski, P.; Meinhardt L.W.; Pereira G.A.G. 2010. Genes Acquired by Horizontal Transfer Are Potentially Involved in the Evolution of Phytopathogenicity in *Moniliophthora perniciosa* and *Moniliophthora roreri*, Two of the Major Pathogens of Cacao. Journal of Molecular Evolution 70(1): 85-97.

TIRADO-GALLEGO, Paola Andrea; LOPERA-ALVAREZ, Andrea and RIOS-OSORIO, Leonardo Alberto. Estrategias de control de Moniliophthora roreri y Moniliophthora perniciosa en Theobroma cacao L.: revisión sistemática. Corpoica cienc. tecnol. agropecu. [online]. 2016, vol.17, n.3, pp.417-430. ISSN 0122-8706. https://doi.org/10.21930/rcta.vol17_num3_art:517.

Trinidad, L. 2011. Manual de manejo fisionutricional en los cultivos con énfasis en Cacao y Arroz. Promotor de Química Suiza S.A Tarapoto.

Urquillas, L. 2004. Inducción de la germinación para mejorar la eficiencia de dos agentes antagónicos para el control de la monilia (*Crinipellis roreri*) del cacao (*Theobroma cacao*) (tesis de Maestría) Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Turrialba, Costa Rica. 72 p.

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. Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín 68(1):7441-7450. 2015. doi: http://dx.doi.org/10.15446/rfnam.v68n1.47830

Villares Ledesma, J.D. 2020. *Estudio comparativo de Trichoderma harzianum mas Bacillus subtilis para el control de agentes causal en el cultivo de aji (Capsicum annuum) en el canton ventanas*. Tesis para la obtención del título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Agraria del Ecuador. Facultad de Ciencias Agrarias.

Villarreal Delgado, M.F.; Villa Rodríguez, E.D.; Cira Chávez, L.A.; Estrada Alvarado, M.I.; Parra Cota, F.I.; De los Santos Villalobos, S. 2018. El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. Rev. mex. fitopatol vol.36 no.1 Texcoco ene./abr. 2018. https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5

Villavicencio, M.; Jiménez, M. 2010. Caracterización morfológica, fisiológica y patogénica de *Moniliophthora roreri* aislados de cinco provincias de la Costa Ecuatoriana. CICYT –ESPOL. Guayaquil, Ecuador. 10p.

Vinale, F., Marra, R.; Scala, F.; Ghisalberti, L.; Lorito, M.; K. Sivasithamparam, K. 2006. Major secondary metabolites produced by two commercial Trichoderma strains active againt different phytopatogens. Letters in Applied Microbiology 43(2): 143-148.

Vinale, F.; Sivasithamparam, K.; Ghisalberti, E.; Marra, R.; Woo, L.; Lorito, M. 2008. Trichoderma–plant–pathogen interactions. Soil Biology and Biochemistry 40(1): 1-10.

Zambrano Valdiviezo, L.J. 2021. Efecto del *Bacillus subtilis* usado como protectante en el control de enfermedades en el cultivo de pepino (*Cucumis sativus*), La Troncal, Cañar. Tesis para la obtención del título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Agraria del Ecuador. Facultad de Ciencias Agrarias. Milagro, Ecuador.

ANEXOS

Tabla 10. ANVA para la primera evaluación de mazorcas sanas por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	8,507	3	2,836	99,350	,000
Error	,343	12	,029		
Total	8,849	15			

Tabla 11. ANVA para la segunda evaluación de mazorcas sanas por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	4.637	3	1.546	23.855	0
Error	0.778	12	0.065		
Total	5.414	15			

Tabla 12. ANVA para la tercera evaluación de mazorcas sanas por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	3.403	3	1.134	20.163	0
Error	0.675	12	0.056		
Total	4.078	15			

Tabla 13. ANVA para la cuarta evaluación de mazorcas sanas por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	7.297	3	2.432	45.428	0
Error	0.643	12	0.054		
Total	7.939	15			

Tabla 14. ANVA para la quinta evaluación de mazorcas sanas por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	5.945	3	1.982	8.13	0.003
Error	2.925	12	0.244		
Total	8.87	15			

Tabla 15. ANVA para la sexta evaluación de mazorcas sanas por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	6.108	3	2.036	30.16	0
Error	0.81	12	0.068		
Total	6.918	15			

Tabla 16. ANVA para la septima evaluación de mazorcas sanas por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	7.417	3	2.472	38.655	0
Error	0.768	12	0.064		
Total	8.184	15			

Tabla 17. ANVA para la primera evaluación de escala de abundancia por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	6,022	3	2,007	32,884	,000
Error	,732	12	,061		
Total	6,754	15			

Tabla 18. ANVA para la segunda evaluación de escala de abundancia por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	4.875	3	1.625	22.543	0
Error	0.865	12	0.072		
Total	5.74	15			

Tabla 19. ANVA para la tercera evaluación de escala de abundancia por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	6.315	3	2.105	33.457	0
Error	0.755	12	0.063		
Total	7.07	15			

Tabla 20. ANVA para la cuarta evaluación de escala de abundancia por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	5.257	3	1.752	152.927	0
Error	0.137	12	0.011		
Total	5.394	15			

Tabla 21. ANVA para la quinta evaluación de escala de abundancia por planta

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	3.912	3	1.304	29.947	0
Error	0.523	12	0.044		
Total	4.434	15			

Tabla 22. ANVA para la sexta evaluación de escala de abundancia por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	3.217	3	1.072	27.822	0
Error	0.463	12	0.039		
Total	3.679	15			

Tabla 23. ANVA para la septima evaluación de escala de abundancia por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	2.557	3	0.852	15.674	0
Error	0.653	12	0.054		
Total	3.209	15			

Tabla 24. ANVA para la primera evaluación del porcentaje de incidencia por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	4104.973	3	1368.324	73.577	0
Error	223.165	12	18.597		
Total	4328.138	15			

Tabla 25. ANVA para la segunda evaluación del porcentaje de incidencia por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	3817.167	3	1272.389	65.135	0
Error	234.418	12	19.535		
Total	4051.584	15			

Tabla 26. ANVA para la tercera evaluación del porcentaje de incidencia por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	4093.115	3	1364.372	51.007	0
Error	320.985	12	26.749		
Total	4414.1	15			

Tabla 27. ANVA para la cuarta evaluación del porcentaje de incidencia por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	4955.702	3	1651.901	286.757	0
Error	69.128	12	5.761		
Total	5024.829	15			

Tabla 28. ANVA para la quinta evaluación del porcentaje de incidencia por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	3737.402	3	1245.801	111.044	0
Error	134.627	12	11.219		
Total	3872.029	15			

Tabla 29. ANVA para la sexta evaluación del porcentaje de incidencia por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	3421.722	3	1140.574	45.84	0
Error	298.578	12	24.881		
Total	3720.299	15			

Tabla 30. ANVA para la séptima evaluación del porcentaje de incidencia por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	4186.322	3	1395.441	37.304	0
Error	448.893	12	37.408		
Total	4635.214	15			

Tabla 31. ANVA para el total de mazorcas sanas por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	288.555	3	96.185	211.589	0
Error	5.455	12	0.455		
Total	294.01	15			

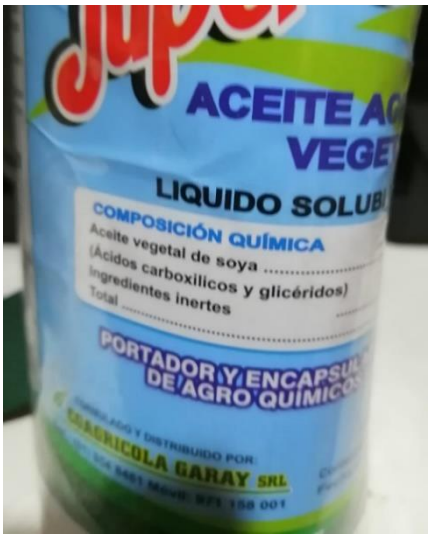
Tabla 32. ANVA para el total de escala de abundancia por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	199.067	3	66.356	216.819	0
Error	3.672	12	0.306		
Total	202.739	15			

Tabla 33. ANVA para el total del porcentaje de incidencia por planta.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	3812.165	3	1270.722	717.415	0
Error	21.255	12	1.771		
Total	3833.42	15			

ICONOGRAFIA



Aceite agrícola Super Oil, a base de aceite vegetal de soya.



Producto comercial Biosafe a base de *Bacillus subtilis*, solución concentrada.



Producto comercial TriSun a base de *Trichoderma viride y Trichoderma harzianum*, polvo mojable.



Área en estudio (plantación de cacao CCN51).



Demarcación del área de investigación.



Instalación de los tratamientos T2R1 (*Trichoderma spp*).



Instalación de los tratamientos T3R1 (*Bacillus subtilis*).



Instalación de los tratamientos T4R2 (*Trichoderma spp + Bacillus subtilis*).



Después de la instalación del tratamiento T2R2.



Después de la instalación del tratamiento T3R1.



Aplicación de *Trichoderma spp*. + *Bacillus subtilis* en en el tratamiento T4R1.



Frutos de cacao (*Theobroma cacao* L) menores de 40 días en el tratamiento T2R4.



Frutos de cacao (*Theobroma cacao* L) menores de 60 días en el tratamiento T3R4.



Frutos de cacao (*Theobroma cacao* L) de 6 meses del tratamiento T2R4.



Visita de los jurados en campo.