

**UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**



**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGRÓNOMA**

**TESIS PARA OBTENER
EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERA AGRÓNOMO**

**ESTUDIO DEL PROCESO DE INFECCIÓN DE
Moniliophthora roreri EN FRUTOS DE CACAO (*Theobroma
cacao*), EN LA PROVINCIA DE UTCUBAMBA - REGIÓN
AMAZONAS**

**Bach: Lisseth Alejandria Tapia
Asesor: Ing. M.Cs. Santos Triunfo Leiva Espinoza
Coasesor: Ph. D. Jorge Ronny Díaz Valderrama**

Registro: (.....)

CHACHAPOYAS – PERÚ

2021

Dedicatoria

Esta tesis es dedicada a Dios por ser mi soporte e inspiración en cada paso de mi vida, por poner en mi camino personas que me ayudan e iluminan a seguir superándome. Dedico con mucho cariño y amor a mis queridos abuelitos por haberme inculcado buenos valores y guiarme por el camino del bien durante estos años, a mis magníficos padres por el sacrificio y esfuerzo de brindarme una educación y creer en mi capacidad de superación, por ser mi motor cotidiano, por sus palabras de aliento para no decaer y poder seguir adelante, para ser perseverante y luchar por mis sueños. A mis demás familiares y amigos por estar presentes en cada momento.

Agradecimiento

A Dios por darme la vida, salud y fuerza de superación, por estar conmigo en cada logro y caída para poder lograr mis metas.

Agradezco a mis padres y abuelitos por estar siempre conmigo por apoyarme en cada decisión y proyecto, por estar presentes y aportar buenas cosas en mi vida. Del mismo modo agradezco a mis asesores Santos Triunfo Leiva Espinoza y Jorge Ronny Díaz Valderrama por haberme brindado la oportunidad acudir a su capacidad, experiencia y conocimiento científico. Al proyecto BIOFUNGICIDA con CONTRATO N° 10-2018-FONDECYT-BM-ADT-AV, financiado por el Fondo Nacional de Desarrollo Científico tecnológico y de innovación tecnológica (FONDECYT) por promover el desarrollo de las ciencias agrarias, a los docentes de escuela profesional de agronomía de la UNTRM por la paciencia, los consejos y los grandes conocimientos adquiridos durante mi formación profesional. A mis compañeros del laboratorio y campo por su apoyo y paciencia durante mi trabajo de tesis en la parte experimental.

**Autoridades de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez De Mendoza De
Amazonas**

Dr. Policarpio Chauca Valqui
Rector

Dr. Miguel Ángel Barrena Gurbillón
Vicerrector Académico

Dra. Flor Teresa García Huamán
Vicerrectora de Investigación

Dr. Erick Aldo Auquiñivin Silva
Decano de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias

Visto Bueno del Asesor de la Tesis



ANEXO 3-K

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

El que suscribe el presente, docente de la UNTRM (X)/Profesional externo (), hace constar que ha asesorado la realización de la Tesis titulada *Estudio del proceso de infección de *Axulophthara nasae* en puntos de venta (Tucayama, cacah) en la provincia de Utcubamba, región Amazonas* del egresado *Bach. Lisbeth Alejandra Topica* de la Facultad de *Ingeniería y Ciencias Agrarias* Escuela Profesional de *Ingeniería Agrónoma* de esta Casa Superior de Estudios.



El suscrito da el Visto Bueno a la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de observaciones que formulen en Acta en conjunto, y estar presente en la sustentación.

Chachapoyas, *11* de *Octubre* del *2021*

Ing. M.Cs. Santos Triunfo Leiva Espinoza
Docente de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias

Visto Bueno del Coasesor de la Tesis



UNTRM

REGLAMENTO GENERAL

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

ANEXO 3-K

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

El que suscribe el presente, docente de la UNTRM ()/Profesional externo (X), hace constar que ha asesorado la realización de la Tesis titulada *Estudio del proceso de infección de *A. exilis* en un fuente de agua (Ishukrama, Tarma), en la provincia de Huabamba, región Amazonas* del egresado *Bach. Lisbeth Alejandra Tapia* de la Facultad de *Ingeniería y Ciencias Agrarias* Escuela Profesional de *Ingeniería Agrónoma* de esta Casa Superior de Estudios.



El suscrito da el Visto Bueno a la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de observaciones que formulen en Acta en conjunto, y estar presente en la sustentación.

Chachapoyas, 11 de *Setiembre* del 2021


Ph.D. Jorge Ronny Diaz Valderrama
Investigador asociado INDES-CES

Jurado Evaluador de la Tesis



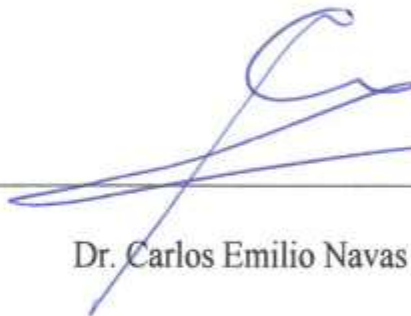
Dr. Segundo Manuel Oliva Cruz

Presidente



Ing. Mg. C. César Guevara Hoyos

Secretario



Dr. Carlos Emilio Navas del Águila

Vocal

Constancia de Originalidad de la Tesis



ANEXO 3-0

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

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

Estudio del proceso de infección de Monilophthora
rosei en frutos de cacao (Theobroma cacao) en la provincia de Utcubamba

presentada por el estudiante ()/egresado (x) Lisseth Alejandra Tapia
de la Escuela Profesional de ingeniería agrónoma

con correo electrónico institucional 7057077751@untrm.edu.pe

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

- La citada Tesis tiene 10 % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es menor (x) / igual () al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM.
- La citada Tesis tiene % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es mayor al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM, por lo que el aspirante debe revisar su Tesis para corregir la redacción de acuerdo al Informe Turnitin que se adjunta a la presente. Debe presentar al Presidente del Jurado Evaluador su Tesis corregida para nueva revisión con el software Turnitin.



Chachapoyas, 12 de octubre del 2021

SECRETARIO

VOCAL

PRESIDENTE

OBSERVACIONES:

.....
.....

Índice del Contenido

Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Autoridades de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.....	iv
Visto Bueno del Asesor de la Tesis.....	v
Visto Bueno del Coasesor de la Tesis.....	vi
Jurado Evaluador de la Tesis.....	vii
Constancia de Originalidad de la Tesis.....	viii
Acta de Sustentación de la Tesis.....	ix
Índice de Contenido.....	x
Índice de Tablas.....	xii
Índice de Figuras.....	xiii
Resumen.....	xiv
Abstract.....	xv
I. INTRODUCCIÓN	16
II. MATERIALES Y MÉTODOS	20
2.1. Instalación del campo experimental	20
2.2. Diseño del experimento	21
2.3. Manejo del experimento	23
2.4. Variables de estudio.....	28
2.5. Visualización	30
III. RESULTADOS	31
3.1. Porcentaje de incidencia en los frutos de CNFA	31
3.2. Porcentaje de severidad externa en frutos de CNFA en diferentes edades y tiempos de evaluación.....	33
3.3. Porcentaje de severidad interna en frutos de CNFA en diferentes edades y tiempos de evaluación.....	35
IV. DISCUSIÓN	40
4.1. Concentración del inóculo	40
4.2. Inoculación Artificial.....	41
4.3. Incidencia, severidad interna y severidad externa.....	41

V. CONCLUSIONES	45
VI. RECOMENDACIONES	46
VII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
ANEXOS.....	51

Índice de Tablas

Tabla 1. Investigaciones relacionadas con el estudio.....	17
Tabla 2. Diseño experimental.....	22

Índice de Figuras

Figura 1. Mapa de ubicación del experim...ento.....	21
Figura 2. Pasos para la polinización artificial.....	24
Figura 3. Cosecha y conteo de esporas de <i>M. roleri</i>	25
Figura 4. Inoculación artificial de <i>M. roleri</i>	26
Figura 5. Escala de severidad externa.....	29
Figura 6. Escala de severidad interna.....	30
Figura 7. Incidencia de <i>M. roleri</i> en frutos de cacao en 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140 y 160 de edad evaluados a los 20,40 y 60 días después de la inoculación artificial.....	32
Figura 8. Índice de severidad externa de <i>M. roleri</i> en frutos de cacao en 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140 y 160 de edad evaluados a los 20,40 y 60 días después de la inoculación artificial.....	35
Figura 9. Índice de severidad interna de <i>M. roleri</i> en frutos de cacao en 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140 y 160 de edad evaluados a los 20,40 y 60 días después de la inoculación artificial.....	37
Figura 10. Frutos inoculados con <i>M. roleri</i> a los 20 días y evaluado 60 días post inoculación con presencia y ausencia de síntomas de moniliasis.....	38
Figura 11. Resistencia y susceptibilidad de los genotipos a <i>M. roleri</i> evaluados post inoculación en diferentes edades.....	39

Resumen

El cacao nativo fino de aroma (CNFA) de la región Amazonas, Perú es muy valorado por su sabor y aroma únicos. Sin embargo, el CNFA es afectado por *Moniliophthora roreri* que causa la enfermedad de la moniliasis, perjudicando considerablemente su producción. A pesar de su importancia, se conoce muy poco cómo *M. roreri* afecta al CNFA. Por lo tanto, el objetivo principal de este estudio es determinar el proceso de infección de *M. roreri* en frutos de CNFA. Para ello se realizó la inoculación de *M. roreri* a una concentración de 100,000 esporas/ml de la cepa Bagua Grande 6 (BG6) en mazorcas de cacao en diferentes edades producidas mediante polinización artificial. En estas mazorcas se monitoreó el desarrollo de la infección evaluando incidencia, severidad externa e interna basado en las características macroscópicas de la moniliasis. Las edades de los frutos inoculados fueron de 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140 y 160 días, y las evaluaciones se realizaron cada 20, 40 y 60 días post inoculación. Se encontró que los frutos a los 20 días post inoculación no presentaron ningún síntoma en todas las edades evaluadas. A los 40 días post inoculación se reflejaron síntomas en edades de 20, 40, 60, 100, 120 y 160. Finalmente, 60 días post inoculación todas las edades mostraron síntomas de severidad interna y externa. De los 18 genotipos evaluados, el genotipo que no desarrolló síntomas de moniliasis fue Indes-31, lo que lo convierte en potencial fuente de resistencia genética a la monilia.

Palabras claves: Moniliasis, infección, cacao, severidad, incidencia

Abstract

The native fine aroma cacao (CNFA) from the Amazon region in Peru is highly valued for its unique flavor and aroma. However, the CNFA is affected by several pathogens, such as *Moniliophthora roreri*, which causes frosty pod rot (FPR) severely affecting its production as it attacks exclusively the fruits. Despite its importance, very little is known about how *M. roreri* infects the CNFA. Therefore, the main objective of this study is to determine the infection process of *M. roreri* in CNFA fruits. For this, cacao fruits at different ages produced by artificial pollination, were inoculated with *M. roreri* Bagua Grande 6 (BG6) strain at a concentration of 100,000 spores/ml. The development of the infection in the inoculated pods was monitored by evaluating incidence, and external and internal severity based on the macroscopic characteristics of FPR. The ages of the inoculated fruits were 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140 and 160 days, and the evaluations were carried after 20, 40 and 60 days after inoculation. It was found that the fruits at 20 days after inoculation did not present any symptom in all the evaluated ages. At 40 days after inoculation, symptoms appeared in fruits of 20, 40, 60, 100, 120 and 160 days. Finally, 60 days after inoculation, all ages showed symptoms of internal and external severity. Out of the 18 genotypes evaluated, clone Indes-31 did not develop FPR symptoms, which makes it a potential source of genetic resistance to FPR

Keywords: Frosty pod rot, infection, cocoa, severity, incidence

I. INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao*) es un cultivo tropical originario del Alto Amazonas que actualmente es cultivado por unos 6 millones de pequeños agricultores a nivel mundial, en el periodo colonial fue cuando las enfermedades del cultivo de cacao comenzaron a manifestarse como amenazas en la producción (Díaz et al., 2020). En la actualidad, el Perú exporta del 50 a 75% de cacao que corresponde al 7% de la producción internacional, y esto genera una utilidad de 266 millones de dólares en exportaciones (López et al., 2020). Una de las enfermedades más importantes es la moniliasis causada por el hongo Basidiomycota *Moniliophthora roreri*. Esta enfermedad es originaria de Sudamérica y su distribución geográfica se extiende por casi toda Latino América (Correa et al., 2014). La moniliasis tiene un efecto en la producción y calidad del grano (Pérez, 2018), ocasionando hasta un 80% de daños en la producción cacaotera (Sánchez y Garcés, 2012). La manera más efectiva de controlarlo es a través de buenas prácticas culturales y fitosanitarias, lo cual requiere un gasto importante de mano de obra (Ramírez et al., 2011). La moniliasis por tanto genera pérdidas económicas afectando directamente los ingresos del productor (Aneja et al., 2006). En Perú, la moniliasis apareció en 1988 en Bagua Grande, Amazonas y desde allí se ha propagado por todo el Perú causando pérdidas entre 19 al 100% en rendimientos de cacao (Rios, 2004).

Moniliophthora roreri no solo afecta al cacao si no a otras especies relacionadas. Un estudio encontró que la inoculación de *M. roreri* en 50 genotipos de tres especies de *Theobroma* (*T. cacao*, *T. bicolor* y *T. grandiflorum*) causó síntomas de moniliasis en 37 de 50 genotipos pertenecientes a las tres especies evaluadas (Sterling et al., 2015). A pesar de su importancia económica, de las pérdidas en rendimiento y de su capacidad de infectar especies diferentes al cacao, poco se conoce sobre los procesos de infección de *M. roreri*.

Tabla 1.*Investigaciones relacionadas al proceso de infección de Moniliophthora roreri en cacao.*

Autor y año	Numero de genotipos evaluados	Edad de los frutos	Tiempo de evaluación después de la inoculación	Días a la aparición de síntomas	Resultados
Paredes (2018)	9	60-65 días	8-9 semanas	7 y 8 semana	Presentaron alto grado de incidencia en todos los clones.
Maldonado (2015)	71	Frutos de 10 cm	65 días	65 días	Genotipos tolerantes y resistentes a <i>M. roreri</i> .
Jaimes et al. (2011)	13	75-80 días	8 semanas	8 semanas	El resultado de los genotipos varió de acuerdo a las condiciones medio ambientales.
Phillips et al. (2005)	5	2 a 3 meses	9 semanas	NA	La SI es de gran valor para clasificar la reacción de un genotipo con <i>M. roreri</i> .
Katip (1994)	NA	77 a 96 días	NA	21 días	Los síntomas <i>M. roreri</i> culmina su ciclo a los 45 días después de la inoculación.
Cruz (1993).	112	85 días	Día 9 hasta 80 días después	NA	Todos los genotipos presentaron respuesta a <i>M. roreri</i> .
Phillips (1991)	18	60 días	9 semanas	9 semanas	La SI oscilo entre 0,3 y 5; la SE entre 0,2 y 4,1 y la incidencia entre 14 y 100%.
Sánchez y Gónzales (1989)	6	de 2 y 3 meses	5 hasta la 15 semana	5 semana	Las severidades evaluadas a la 8 y 9 semana presentaron un punto crítico suficiente para una única lectura.
Porras et al. (1988)	6	45 y 60 días	NA	NA	Los frutos de 60 días de edad fueron los más afectados y la mejor suspensión fue 10×10^5 ya que generó mayor severidad en los frutos.
Phillips (1986)	31	60 días	NA	21 días	La resistencia de los genotipos no está influenciada con el color de la mazorca, la dureza y grosor de mesocarpio.
Brenes (1983)	40	2 meses	8 semanas	NA	Los genotipos mostraron diferencias significativas en severidad interna y externa.
Sánchez (1982)	33	60 días	5 hasta 15 semana	32 días	Se descubrió que una sola lectura de SE a la 8 semana es apto para diferenciar susceptibilidad a <i>M. roreri</i> .
Merchán (1981)	NA	82 y 84 días	15 a 35 días	15 y máximo 35 días	Los frutos protegidos con bolsas de polietileno la aparición de sintomas se aceleró.
Suaréz (1971)	1	20,40,60,80, 100,120, 140 y 160 días	20,40 y 60 días	NA	Los frutos de 20 a 80 días y en 160 días a más la destrucción fue más agresiva a comparación de las demás edades que la invasión fue más lenta.
Sterling et al. (2015)	50	2-3 meses	9 semanas	NA	13 de los 50 materiales genéticos no manifestaron ningún síntoma a <i>M. roreri</i> .

*NA: No aplica: El estudio no indica la información correspondiente

Las enfermedades de los cultivos se pueden estudiar evaluando la incidencia, severidad interna y externa. La incidencia permite determinar la cantidad de frutos enfermos del cultivo (Roncal, 2004). La severidad comprende el área afectada por la enfermedad la cual se manifiesta a través de síntomas externos y síntomas internos. Para estimar tanto la severidad externa como la interna se utiliza diferentes escalas de evaluación dependiendo del cultivo (Roncal, 2004). Samayoa y Sánchez (2000) sugieren que solo se trabaje con incidencia ya que está muy vinculada con la severidad. Sin embargo, Julca et al. (2019) mencionan que la severidad ayuda a precisar mejor el nivel de daño de la enfermedad.

En el caso de moniliasis, se han llevado a cabo varios estudios donde evaluaron resistencia de los genotipos de cacao basados en cálculos de incidencia y/o severidad (Tabla 1). Paredes (2018) encontró una incidencia de 91,67 del 100% y una severidad interna de 4,18 a 5 en una escala de 5 en todos los genotipos que evaluó. Por su parte, Cruz (1993) usó la severidad interna como parámetro para determinar si un cultivar era resistente a moniliasis, mientras que Sánchez (1982) concluyó que una sola lectura de severidad externa a la 8 semana es apta para diferenciar susceptibilidad a *M. royeri*, demostrando que existe diferencias significativas de susceptibilidad entre cultivares.

Sánchez y Gónzales (1989) observaron diferencias de susceptibilidad entre los cultivares que evaluaron, notaron que las severidades entre las 8 y 9 semanas correspondían a un desarrollo máximo de la enfermedad. De igual modo Phillips (1991) evaluó incidencia, severidad externa e interna corroborando que se tiene que reevaluar los cultivares resistentes antes de realizar un mejoramiento genético del cultivo.

Maldonado (2015) en su investigación 65 días después de la inoculación de mazorcas de cacao, constató que hay genotipos resistentes, moderadamente resistentes y susceptibles a moniliasis. Por otro lado, Phillips et al. (2005) comparó la agresividad de 7 aislados de *M. royeri* representando 4 grupos genéticos del patógeno, en 5 genotipos de cacao. Todos los aislados fueron muy agresivos con la mayoría de los cultivares, solo 2 aislamientos mostraron severidad interna y externa muy limitadas. Asimismo, un cultivo mostro resistencia, el cual tendría potencial conveniente para estudios de mejoramiento en cacao (Phillips et al., 2005).

El objetivo de esta investigación es estudiar el proceso de infección de una de las principales enfermedades del cultivo de cacao como *M. royeri*, la cual permitirá brindar un mejor diagnóstico del desarrollo de la moniliasis en los frutos de CNFA. Para ello se realizó la determinación de incidencia, severidad interna y externa de los frutos evaluados en diferentes tratamientos y se comparó los resultados, teniendo en cuenta que las edades evaluadas abarcan todo el desarrollo de la moniliasis para poder realizar un mejor control, minimizando las pérdidas productivas y económicas generadas por este patógeno. Finalmente, identificaremos algunos genotipos de CNFA con potencial resistencia a *M. royeri*.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Instalación del campo experimental

2.1.1 Ubicación del experimento

El estudio de la infección de *Moniliophthora roreri* en frutos de cacao se realizó en octubre del 2020 hasta mayo del 2021 en la estación experimental que alberga el jardín clonal de CNFA del Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva (INDES-CES) de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM) a una altitud de 674 m.s.n.m ubicado en el centro poblado Naranjos Alto, distrito de Cajaruro, provincia de Utcubamba, región Amazonas (mapa de ubicación, Anexo 1).

La reactivación, conteo de esporas y aislamiento de *M. roreri* se realizó en el laboratorio de sanidad vegetal del INDES-CES.

2.1.2. Descripción del campo

El campo experimental de la investigación tuvo un área de 1.5 ha con plantación de 3 años de CNFA. En este estudio se trabajó con 18 (9 genotipos indes, 7 genotipos CAP, IMC67 y un CNI) genotipos sembrados a un distanciamiento de 2.8 x 2.8 metros. Este campo fue seleccionado por su baja incidencia natural de moniliasis.

Figura 1

Mapa de ubicación del experimento



2.2. Diseño del experimento

2.2.1. Población

La población estuvo compuesta por aproximadamente 500 flores de CNFA de la plantación que fueron sujetadas a polinización artificial controlada.

2.2.2. Muestra

De todas las flores que desarrollaron fruto a partir de la polinización artificial ejecutada, se muestrearon 96 frutos de CNFA (unidades experimentales). Estas fueron inoculadas a diferentes edades: 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140 y 160 días y fueron evaluadas a las 20, 40 y 60

días después de la inoculación artificial en las diferentes edades. Para cada una de las edades y tiempos de evaluación se consideraron 4 mazorcas (repeticiones) (Tabla 2).

Tabla 2

Diseño experimental

Tratamientos	Edad de los frutos	Evaluación de frutos días después de la inoculación	Repeticiones
T1	20	20	4
T2	20	40	4
T3	20	60	4
T4	40	20	4
T5	40	40	4
T6	40	60	4
T7	60	20	4
T8	60	40	4
T9	60	60	4
T10	80	20	4
T11	80	40	4
T12	80	60	4
T13	100	20	4
T14	100	40	4
T15	100	60	4
T16	120	20	4
T17	120	40	4
T18	120	60	4
T19	140	20	4
T20	140	40	4
T21	140	60	4
T22	160	20	4
T23	160	40	4
T24	160	60	4

2.2.3. Muestreo

El muestreo se realizó al azar en la parcela en donde se realizó las inoculaciones de las mazorcas en diferentes edades, teniendo en cuenta que se utilizaron 4 mazorcas por tratamiento.

2.3. Manejo del experimento

2.3.1. Polinización artificial de flores de cacao

La metodología utilizada en este estudio ha sido adaptada de Vera y Vera (2018):

- **Aislamiento de botones florales**

Se seleccionaron una gran cantidad de botones florales del CNFA (500 flores), teniendo en cuenta que no todos llegarán a prosperar ya sea por incompatibilidad genética, abortos y otros agentes adversos. Los botones florales fueron aislados en tubos Falcón de 50 ml y tubos de jeringas de 20 ml transparentes, previamente cortados por ambos extremos. Un extremo fue cubierto con un pedazo de tela tocuyo y ajustado con ligas plásticas, mientras que el otro extremo (la base del tubo) se sujetó en el árbol con plastilinas y ligas para evitar la caída. Esto aseguraba que los tubos, permanecieran en los árboles protegiendo los botones florales para prevenir la polinización natural por viento o insectos y evitar plagas y enfermedades a través de esta polinización (Anexo 1).

- **Polinización artificial**

La polinización artificial se realizó una vez identificadas las flores 1 o 2 días después del aislamiento. En un depósito de plástico completamente limpio se recaudaron flores donadoras de polen para poder polinizar a las flores receptoras protegidas por los tubos de plástico, se situó el polen en el estigma de la flor receptora suavemente con una pinza de punta fina y después se protegió nuevamente con el tubo de plástico ajustando con la plastilina y las ligas plásticas (Figura 1).

Figura 2

Pasos para la polinización artificial

		
Paso 1: Aislamiento de botones florales	Paso 2: Polinización artificial	Paso 3: Etiquetado y protección de las flores

2.3.2. Preparación del inoculo

Se utilizó un aislamiento de *M. roreri* de la cepa BG6 ya que obtuvo mejores resultados en investigaciones del laboratorio de sanidad vegetal del INDES-CES.

2.3.2.1. Cosecha y conteo de esporas

Para la cosecha y conteo de esporas usados en la inoculación de frutos de cacao (Figura 2), se utilizó cultivos de la cepa Bagua Grande 6 (BG6) de 15 a 20 días en crecimiento en medio papa dextrosa agar (PDA).

La cosecha y conteo de esporas se efectuó de la siguiente manera:



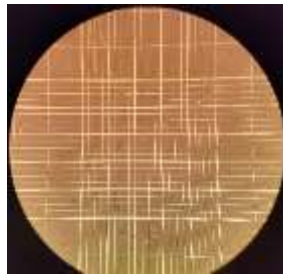

- Se colocó 10 ml de tween al 0.1% en la placa con *M. roreri* en crecimiento, se realizó raspaduras con una espátula esterilizada y se uniformizó la suspensión de esporas.
- En un tubo falcón de 25 ml; se colocó 9 ml de tween al 0.1 %
- De la placa con *M. roreri* en donde se hizo el raspado de esporas se retiró 1 ml del contenido al tubo Falcón, teniendo 10 ml en total de volumen.
- El tubo Falcón conteniendo la suspensión de 10 ml con esporas de *M. roreri*, se agitó en un vortex a 20 000 rpm por 15 segundos, y se coloca 1 ml del contenido a la cámara de new Bauer, para realizar el conteo de esporas.

- Para el conteo de esporas se trabajó con la suspensión de 1×10^5 esporas /ml, basados en Porras et al. (1988), quienes encontraron que esta fue la mejor suspensión de esporas para generar una mayor severidad en los frutos. Asimismo, Bejarano (1961) comenta que los frutos de cacao pueden ser infectados en cualquier edad, remarcando que las etapas iniciales están más expuestas al ataque de moniliasis.
- Porras et al. (1988) utilizó la siguiente fórmula:

$$CONCENTRACIÓN = \frac{\text{Número de células} \times 10\,000}{\text{Número de cuadros}}$$

Figura 3

Cosecha y conteo de esporas de M. roreri

			
Paso 1: Cepa de <i>M. roreri</i>	Paso 2: Raspado y uniformización de esporas	Paso 3: Conteo de esporas en la cámara de new Bauer	Paso 4: Colocar 5 ml de la suspensión 1×10^5 esporas / ml en tubos Falcón.

2.3.2.2. Inoculación e infección de *Moniliophthora roreri*

Se utilizó un protocolo modificado en base a Suárez (1971). Se asperjó 5 ml de la suspensión 1×10^5 esporas/ ml en cada mazorca con un rociador manual previamente esterilizado. Para prevenir los daños se protegió las mazorcas con fundas de polietileno y se ajustó con plastilina para evitar ser infectados por *M. roreri* de manera natural y evitar el ingreso de otros microorganismos o insectos que puedan interferir en el experimento (Figura 4). Además, las fundas de polietileno funcionaron como cámaras húmedas en beneficio del desarrollo del patógeno. Las bolsas de polietileno fueron perforadas por la parte inferior después de los 3 días de la inoculación con el fin de evitar la acumulación de agua y brindar mejor aireación a los

frutos (Figura 4). Finalmente, se etiquetaron los frutos de acuerdo al día de infección para su respectiva identificación y se monitoreó constantemente el estado de las bolsas de polietileno para ser reemplazadas si es que tuvieran algún daño.

Figura 4

*Inoculación artificial de *M. royeri**

<p>Edad 20</p>		
<p>Edad 40</p>		
<p>Edad 60</p>		
<p>Edad 80</p>		

<p>Edad 100</p>		
<p>Edad 120</p>		
<p>Edad 140</p>		
<p>Edad 160</p>		

Dieciocho genotipos de CNFA (Anexo 9) recibieron tratamiento de inoculación. Debido a la baja tasa de cuajamiento de fruto no

se pudo contar con repeticiones para todos los genotipos, pero al no ser la evaluación de la respuesta de genotipos a la de inoculación de *M. royeri*, se llevó adelante el experimento. El diseño del experimento permitió evaluar el desarrollo de *M. royeri* en el CNFA inoculado a diferentes edades de los frutos y en diferentes tiempos de inoculación.

2.3.2.3. Aislamiento de *M. royeri* de los frutos inoculados

Los frutos de CNFA inoculados con *M. royeri* fueron procesados en el laboratorio para aislar al hongo y verificar si la cepa BG6 fue la que causó los síntomas en los frutos evaluados (Anexo 7).

2.4. Variables de estudio

Las variables del estudio son: incidencia, severidad externa y severidad interna de frutos de CNFA infectados artificialmente con *M. royeri*.

2.4.1. Porcentaje de incidencia

Para calcular el nivel de incidencia de *M. royeri* en frutos de cacao se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de incidencia} = \frac{\text{Frutos totales enfermos (SI y/o SE)} *}{\text{Frutos totales evaluados (Sanos + enfermos)}} \times 100$$







* Frutos con síntomas internos (SI: Severidad interna) y/o externos (SE: Severidad externa)

2.4.2. Índice de severidad externa (ISE)

Para ello se utilizó la escala propuesta por Sánchez (1982) adaptada para CNFA (Figura 5).

Figura 5

Escala de severidad externa

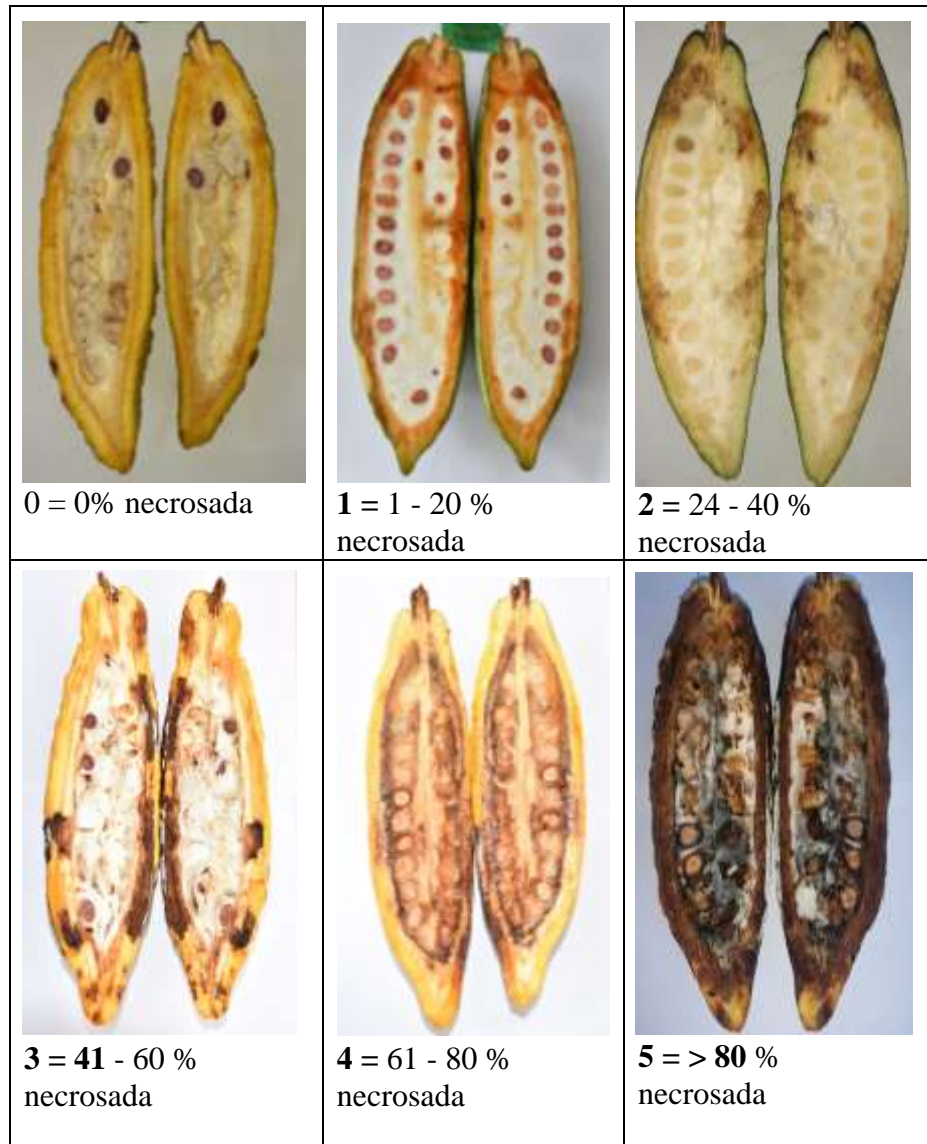
 <p>0 = Fruto sano</p>	 <p>1 = Presencia de hidrosis</p>	 <p>2 = Presencia de tumefacción y/o amarillamiento</p>
 <p>3=Presencia de manchas pardas</p>	 <p>4= Presencia de micelio que cubre hasta la cuarta parte de la mancha parda</p>	 <p>5 = Presencia de micelio que cubre más de la cuarta parte de la mancha parda (momificación).</p>

2.4.3. Índice de severidad interna (ISI)

La severidad interna se evaluó de acuerdo con el grado de necrosamiento interno de cada fruto medido por medio de la siguiente escala adaptada de Sánchez (1982) (Figura 6).

Figura 6

Escala de severidad interna



2.5. Visualización

Para la interpretación de datos de incidencia, severidad interna y severidad externa se analizaron los datos mediante el programa estadístico R v. 3.6.2 usando el paquete de visualización de datos *ggplot2* (Wickham, 2010).

III. RESULTADOS

3.1. Porcentaje de incidencia en los frutos de CNFA

Los porcentajes de incidencia de moniliasis como respuesta a la inoculación artificial de *M. rozeri* de los frutos variaron de acuerdo con la edad y al tiempo de evaluación (Figura 7; Anexo10).

3.1.1. Incidencia en frutos evaluados 20 post inoculación

Sin importar la edad de los frutos inoculados y su genotipo, después de los 20 días no se observaron frutos enfermos, no hubo una incidencia de moniliasis (Figura 7).

3.1.2. Incidencia en frutos evaluados 40 post inoculación

A los 40 días post inoculación, la incidencia de moniliasis varió de acuerdo con la edad de los frutos.

Los frutos de 80 y 140 no mostraron incidencia de moniliasis (Figura 6). Teniendo en cuenta que los genotipos de CNFA probablemente difieren entre sí en sus niveles de resistencia o tolerancia a moniliasis, los genotipos evaluados que no mostraron incidencia a estas edades son Indes 31, Indes 54, Iquitos Marañón Colection (IMC67), A-40, A-46, Indes 27, y un genotipo de cacao no identificado (CNI)

En frutos de 20, 40 y 120 días de edad se observó 25 % de incidencia (Figura 7). Los genotipos evaluados que manifestaron síntomas de la enfermedad a estas edades fueron Indes 24 y Indes 27 y los genotipos sin síntomas de la enfermedad fueron A-125, IMC67, Indes 65, Indes 31, Indes 27, Indes 54 y un CNI. Por su parte, los frutos de 100 días de edad mostraron 50 % (Figura 6), los genotipos con síntomas a la enfermedad fueron A-37 y un CNI, mientras que, los genotipos sin síntomas a la enfermedad fueron Indes 31 y IMC67 (Anexo 9).

En frutos de 60 y 160 días registró 100 % de incidencia moniliasis, siendo los genotipos evaluados IMC67, Indes 53, Indes 27, A-46, A-125, IMC67 y un CNI (Anexo 9).

3.1.3. Incidencia en frutos evaluados 60 post inoculación

A los 60 días post inoculación, la incidencia de moniliasis osciló entre el 50 y 100 % de acuerdo con la edad (Figura 7).

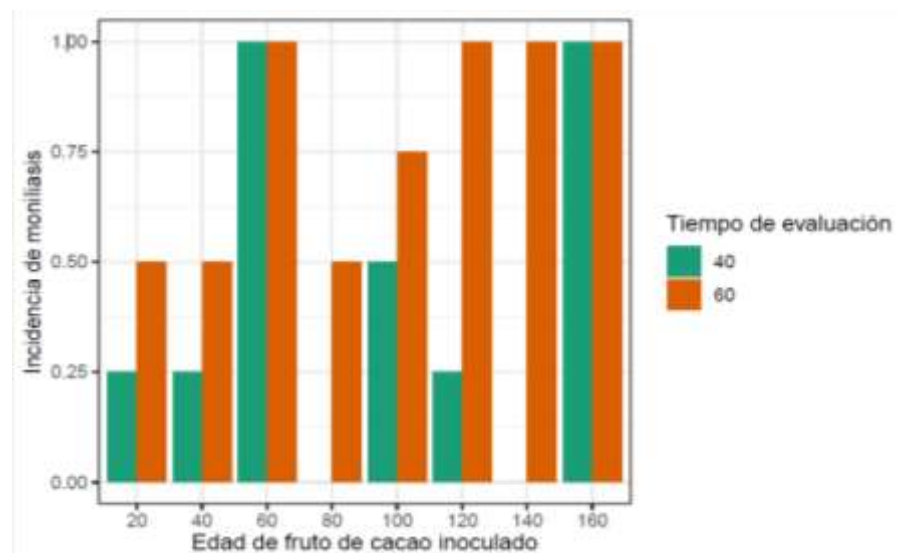
En frutos de 20, 40 y 80 días de edad presentaron 50 % de incidencia (Figura 7). Los genotipos con frutos enfermos fueron Indes 24, Indes 54, A-37, A-40 y A-37, mientras que los que no mostraron síntomas fueron Indes 31, IMC67, A-32 y un CNI.

Los frutos de 100 días de edad mostraron 75 % de incidencia de moniliasis (Figura 7), de los cuales los genotipos de los frutos con enfermedad fueron A-46, A-37, mientras que el genotipo que no presentó síntomas fue Indes 31. Por su parte, todos los frutos de 60, 120, 140 y 160 días manifestaron síntomas de moniliasis (Figura 7); estos frutos fueron de los genotipos IMC67, Indes 65, Indes 54, Indes 24, Indes 27, A-50, A-125, A-46 y un CNI.

En líneas generales, la incidencia incrementó conforme los días de evaluación post inoculación, a los 20 días después todos los frutos inoculados no mostraron síntomas de la enfermedad. A los 40 días, más de la mitad de los frutos evaluados mostraron incidencia. Finalmente, a los 60 días post inoculación todos los frutos fueron afectados, presentando un alto porcentaje de incidencia.

Figura 7

*Incidencia de moniliasis en frutos de cacao en 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140 y 160 de edad evaluados a los 40 y 60 días post inoculación con *M. royeri*. No se colocó la evaluación 20 días post inoculación porque en todos los casos fue de 0 %.*



3.2. Porcentaje de severidad externa en frutos de CNFA en diferentes edades y tiempos de evaluación.

Los frutos evaluados presentaron grados de severidad externa que fluctuaron entre 0 y 4 (Figura 8).

3.2.1. Severidad externa en frutos evaluados 20 post inoculación

Los frutos sin importar edad y el genotipo no manifestaron niveles de severidad externa y obtuvieron valores de 0 en las evaluaciones (Figura 8; Anexo 10).

3.2.2. Severidad externa en frutos evaluados 40 post inoculación

La severidad externa observada a los 40 días post inoculación osciló entre 0.25 y 4 (Figura 8).

Los frutos de 80 y 140 días de edad no reflejaron síntomas externos y los genotipos evaluados correspondientes a esta severidad externa nula fueron Indes 31, Indes 54, Indes 27, IMC67, A-46, A-74 y un CNI.

Síntomas externos de moniliasis se pudo observar en frutos de 120 días de edad (severidad externa de 0.25), de 100 días de edad (severidad externa de 1), frutos de 20 y 40 días de edad (severidad externa de 1.25), de 60 días de edad (severidad externa de 1.75) y frutos de 160 días (con severidad externa de 4) (Anexo 10).

Los frutos que manifestaron severidad externa son de los genotipos Indes 24 en frutos de 20 y 40 días; IMC67 en frutos de 20,40, 60, 80,100 y 160 días; Indes 53 en frutos de 60 días; Indes 27 en frutos de 60 y 120 días; un CNI en frutos de 100 y 160; A-37 en frutos de 100 días; y (A-46 y A-125) en frutos de 160 días. Asimismo, los genotipos de los frutos de los frutos que no mostraron síntomas de severidad externa fueron A-125 en frutos de 20 días; IMC67 e Indes 65 en frutos de 20 días; Indes 27 en frutos de 40 y 140; Indes 31 en frutos de 40, 80 y 100 días; Indes 54 en frutos de 80, 120 y 140 días; IMC67 en frutos de 20,40, 80 y 100 días; A-46 en frutos de 80 días; un CNI en frutos de 120 y 140; y; A-74 en frutos de 140 días (Anexo 9).

Algunos frutos de genotipos de CNFA evaluados como IMC67, Indes 27, CNI, A-46 y A-125 mostraron un desarrollo de síntomas de

moniliasis variable, incluso en algunas ocasiones no desarrollaron síntomas a los 20,40 y 60 días de evaluación (Anexo 9).

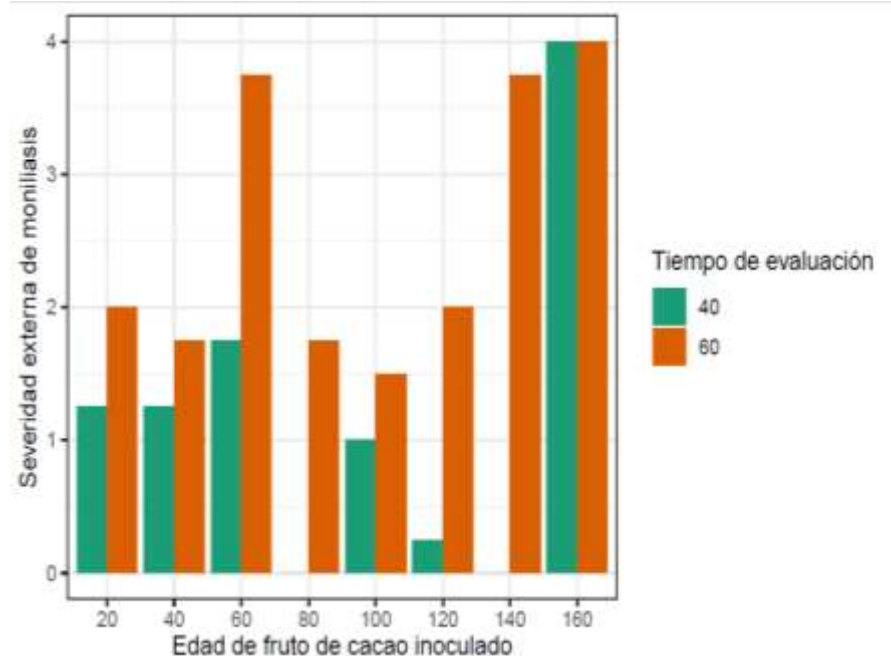
3.2.3. Severidad externa en frutos evaluados 60 post inoculación

Los frutos de todas las edades evaluadas mostraron síntomas de severidad externa con valores de entre 1.5 y 4 (Figura 8). Los frutos de 100 días mostraron el menor índice de severidad externa con un valor de 1.5, mientras que los frutos con mayor índice de severidad externa fueron los frutos de 160 con un valor de 4. Los frutos de 40 y 80 días presentaron una severidad externa de 1.75; los frutos de 20 y 120 días una severidad externa de 2; y los frutos de 60 y 140 días, severidad externa de 3.75 (Figura 8; Anexo 10).

Los frutos que tuvieron síntomas de severidad externa son los genotipos Indes 24 en frutos de 20,40,60,120, 160 días de edad; Indes 54 en fruto de 40 días de edad; A-37 en frutos de 20,80, 100 días de edad; IMC67 en fruto de 60 días, Indes 65 en fruto de 60 días, A-50 en fruto de 60 días; A-40 en fruto de 80 días; A-46 en frutos de 100 y 140 días; CNI en frutos de 120,140 y160 días de edad; A-125 en frutos de 120 y 140 días; y Indes 27 en fruto de 140 y 160 días de edad. Además, los genotipos que no manifestaron severidad externa fueron Indes 31 en frutos de 20, 40, 80 y 100 días de edad; A-32 en fruto de 80 días; IMC67 en fruto de 40 días y un CNI en fruto de 20 días de edad (Anexo 9).

Figura 8

Índice de severidad externa en frutos de 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140 y 160 de edad evaluados a los 40 y 60 días post inoculación con *M. royeri*. No se colocó la evaluación 20 días post inoculación porque en todos no presentó severidad externa.



3.3. Porcentaje de severidad interna en frutos de CNFA en diferentes edades y tiempos de evaluación.

Los frutos de genotipos de CNFA evaluados en diferentes tiempos mostraron una severidad entre 0 y 4 (Figura 9).

3.3.1. Severidad interna en frutos evaluados 20 días post inoculación

Todos los genotipos evaluados no presentaron severidad interna, demostrando que en ese tiempo de evaluación no existe manifestación aparente de síntomas internos de *M. royeri* (Figura 9).

3.3.2. Severidad interna en frutos evaluados 40 días post inoculación

Los frutos de 120 y 140 días de edad no presentaron síntomas de severidad interna, mientras que frutos de otras edades sí presentaron una severidad interna mayor de 0.5; los frutos de 60 días, una severidad interna de 0.75; los frutos de 20 y 40, una severidad interna de 1.25 y los frutos de 160 días una severidad interna de 4 (Figura 9; Anexo 10).

Los genotipos que reflejaron severidad interna fueron Indes 24 en frutos de 20, 40 días; Indes 53 en frutos de 60 días; Indes 27 en frutos de 60 días; A-37 en frutos de 100 días; A-46 en frutos de 160 días; A-125 en frutos de 160 días; CNI en frutos de 160 días; y IMC67 fruto de 160 días. Asimismo, los genotipos que no mostraron síntomas de severidad interna son A-125 en frutos de 20 días; IMC67 en frutos de 20,40,60,80 y 100 días; Indes 65 en frutos de 20 días; Indes 27 en frutos de 40,60,120 y 140 días; Indes 31 en frutos de 40,80 y 100 días; Indes 54 en frutos de 80,120 y 140 días; A-46 en frutos de 80 días; IMC67 en frutos de 100 días; CNI en frutos de 100, 120 y 140 días; y A-74 en frutos de 140 días de edad (Anexo 9).

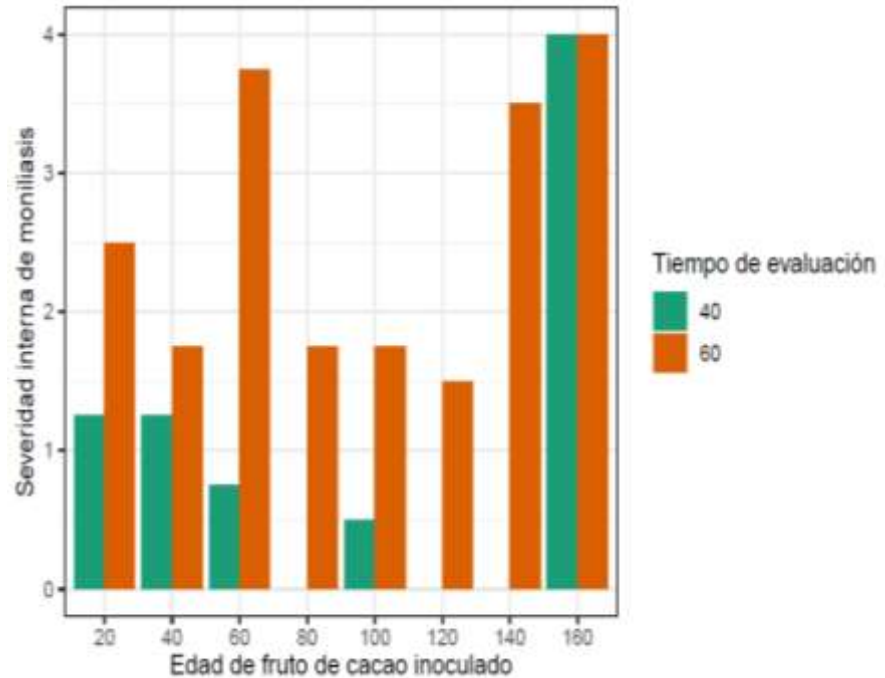
3.3.3. Severidad interna en frutos evaluados 60 días post inoculación

Todos los genotipos de los frutos de cacao presentaron síntomas internos a los 60 días post inoculación, presentando una severidad interna de entre 1.75 a 4 (Figura 9). Los frutos de 120 días reportaron una severidad interna de 1.5; los frutos de 40, 80 y 100 días, una severidad interna de 1.75; los frutos de 20 días, una severidad interna de 2.5; los frutos de 140 días, una severidad interna de 3.5; los frutos de 160 días una severidad de 4 (Figura 9; Anexo 10).

Los genotipos que presentaron síntomas de severidad interna son Indes 24 en frutos de 20,40,60,120 y 160 días; A-37 en frutos de 20,80 y 100 días; Indes 54 en fruto de 40 días; IMC67 en frutos de 60 días; Indes 65 en frutos de 60 días; A-50 en fruto de 60 días; A-40 en fruto de 80 días; A-46 en frutos de 100 y 140 días; CNI en frutos de 120, 140 y 160 días; A-125 en frutos de 120 y 140 días; Indes 27 en frutos de 140 y 160 días de edad. Además, los genotipos que no reflejaron síntomas internos son Indes 31 en frutos de 20,40,80 y 100 días; CNI en fruto de 20 días; IMC67 en fruto de 40 días; y A-32 en frutos de 80 días de edad (Anexo 9).

Figura 9

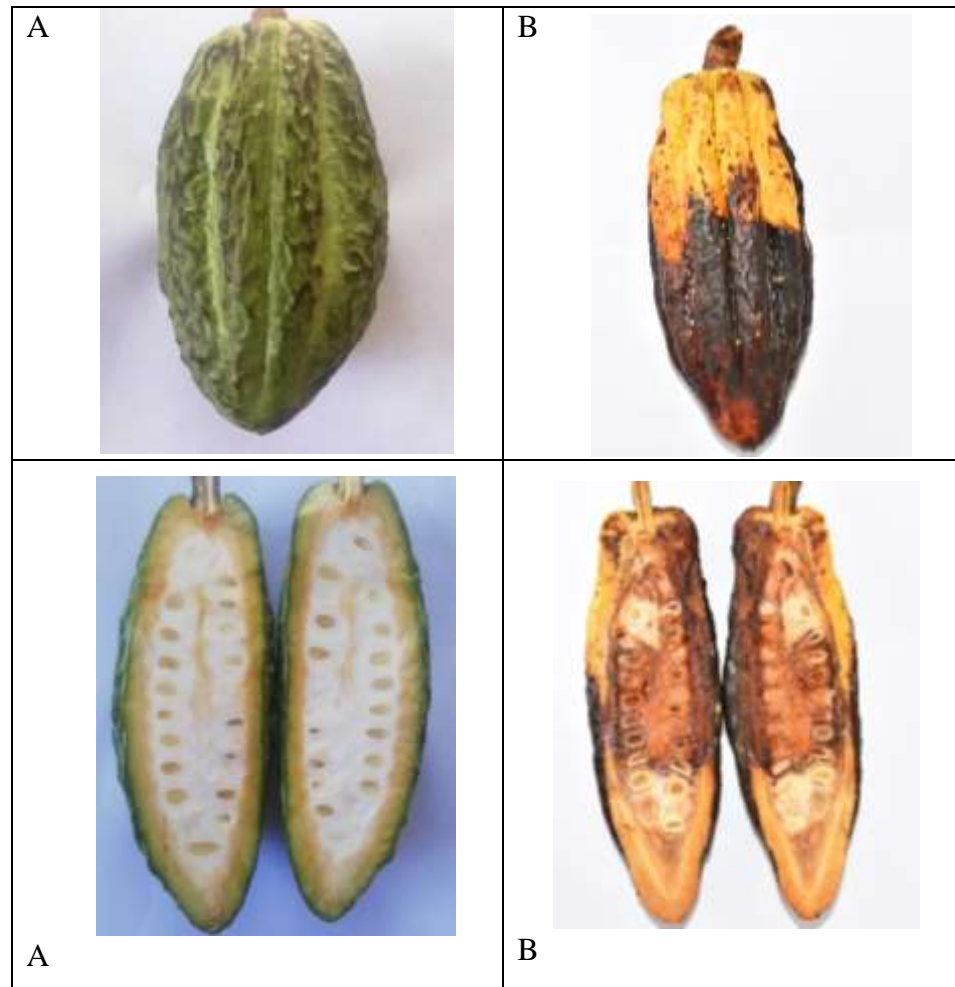
Índice de severidad interna en frutos de 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140 y 160 de edad evaluados a los 40 y 60 días post inoculación. No hubo medición a los 20 días post inoculación ya que en todos los casos no mostraron severidad interna.



Es preciso mencionar que los frutos inoculados artificialmente con *M. rozeri* y que presentaron síntomas de la enfermedad a medida que avanzaban los días no mostraban un desarrollo normal en comparación con los frutos de sus edades que fueron inoculados y que no presentaron, ya que estaban más pequeños, esto ocurrió en todas las edades en general (Figura 10).

Figura 10

Frutos inoculados con *M. royeri* a los 20 días y evaluados a los 60 días post inoculación con presencia y ausencia de síntomas de moniliasis (A: Sin síntomas, genotipo CNI); (B: Con síntomas, genotipo indes 24).



Enfocándose en los genotipos de CNFA evaluados en diferentes edades y tiempo de evaluación se pueden sacar algunas conclusiones acerca del nivel de resistencia y susceptibilidad a *M. royeri*. Hay que aclarar que, para algunos genotipos no fue posible decretar si es resistente o no, ya que no contaron con suficientes repeticiones (Anexo 9) debido a que en estos genotipos la polinización artificial no prosperó. Por ende, se debe continuar las investigaciones para determinar los niveles de resistencia a *M. royeri* de los genotipos.

De acuerdo con lo observado el único genotipo que no presentó síntomas con *M. royeri* fue Indes 31, en comparación de los demás genotipos que

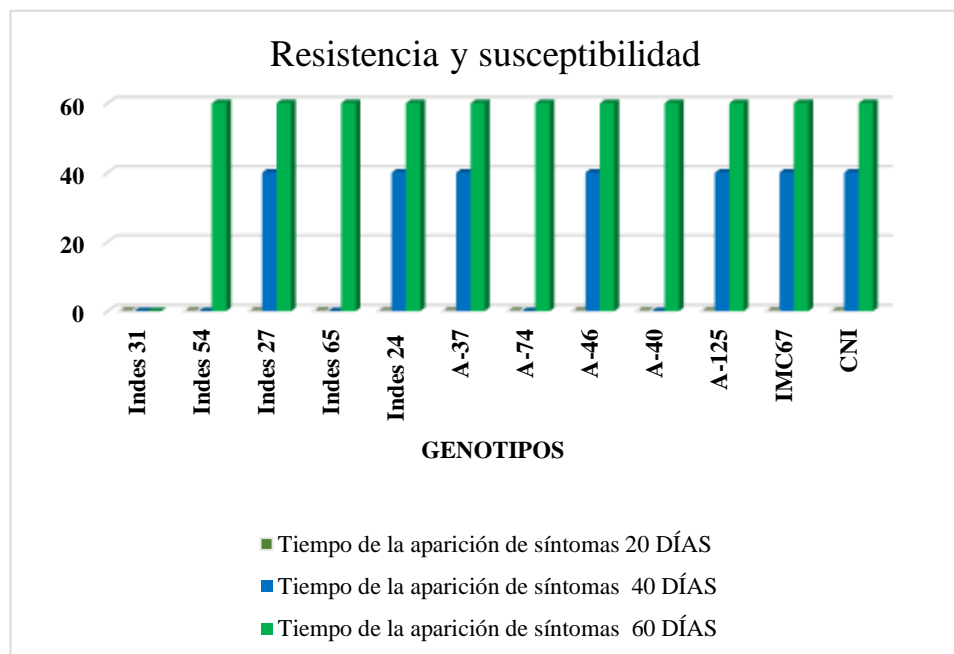
manifestaron susceptibilidad (Indes 54, Indes 27, Indes 65, Indes 24, A-37, A-74, A-46, A-40, A-125, IMC67 y CNI; Figura 11; Anexo 11).

En algunos casos la severidad interna y severidad externa no estuvieron relacionadas entre sí en los diferentes genotipos evaluados ya que se obtuvieron no concordantes.

En este estudio los primeros síntomas externos de moniliasis aparecieron a los 40 días post inoculación coincidiendo en tiempo con los síntomas internos. Sin embargo, dependió de la edad de los frutos y de los genotipos de CNFA, ya que en algunos casos los síntomas internos y externos se reflejaron a los 60 días post inoculación. Asimismo, la esporulación de *M. royeri* afloró a los 60 días post inoculación en la mayoría de los genotipos de CNFA evaluados en las diferentes edades (Anexo 11).

Figura 11.

Resistencia y susceptibilidad de los genotipos a M. royeri evaluados post inoculación en diferentes edades.



IV. DISCUSIÓN

En Perú es el segundo productor de cacao criollo orgánico a nivel mundial (López et al., 2020). Sin embargo, el cultivo está en constantemente expuesto a muchas plagas y enfermedades, entre ellas la moniliasis. Los cacaos nativos como el CNFA, han sido históricamente susceptible a moniliasis (Albores, 2018). Es por ello que resulta indispensable entender el proceso de infección de la moniliasis en el CNFA.

Existen varios estudios que evaluaron la capacidad de infección de *M. rozeri* en frutos de cacao en varias edades. Algunos estudios encontraron que *M. rozeri* es capaz de desarrollar la enfermedad en frutos de cualquier edad de desarrollo (Evans, 1986; Hernández, 2012). Sin embargo; otros estudios determinaron que las edades más expuestas son en las primeras fases de desarrollo (Bejarano, 1961; Albuquerque et al., 2005). En este estudio se encontró que una cepa de *M. rozeri* proveniente de Bagua Grande es capaz de infectar frutos de CNFA a partir de los 20 días de edad en especial con mayor grado de severidad en los frutos adultos de 160 días de edad.

4.1. Concentración del inóculo

La concentración de esporas para la inoculación artificial de frutos de cacao ha sido convencionalmente de 1×10^5 esporas/ ml (Sánchez y Gónzales, 1989; Phillips, 1991; Porras et al., 1988; Sánchez, 1982; Suárez, 1971).

En este proyecto se utilizó esta misma concentración de esporas usando un volumen total de 5 ml. Esto permitió una inoculación práctica de los frutos. No obstante, dificultó un poco en la aplicación de frutos veinte días ya que eran muy pequeños y el agua se depositaba en la bolsa de polietileno.

Sánchez (1982) indica que la concentración 1×10^5 esporas/ml no es propicia para cultivares muy susceptibles ya que la concentración es elevada, más aún si se cuenta con condiciones ambientales favorables para su desarrollo. Sin embargo, en este estudio se contó con cultivares muy susceptibles y las condiciones del lugar fueron óptimas para el desarrollo de la enfermedad aun así no se manifestó alto porcentaje de avance de la enfermedad, i.e., no se obtuvieron frutos que lleguen a la fase de momificación completa del fruto (5 en la escala de severidad externa). Es muy importante tener en cuenta la concentración de esporas ya que de ellas depende la incidencia y severidad de la enfermedad. Además, la severidad interna y externa están influenciados por la concentración de esporas y el genotipo (Sánchez, 1982). En su investigación

Rodríguez y Suárez (1973) encontraron que en algunos genotipos figuraron baja putrefacción interna en los frutos inoculados, lo cual concuerda con esta investigación ya se obtuvo diferentes grados de desarrollo de la moniliasis.

4.2. Inoculación artificial

El propósito de la inoculación artificial es evaluar la respuesta de la planta a la infección causada por el patógeno (Paredes, 2018). En efecto, esta investigación obtuvo diferentes niveles de incidencia lo cual permitió evaluar los grados de severidad interna y externa en diferentes edades del CNFA.

Para este estudio en la inoculación artificial se utilizó la metodología de pulverización o atomizador para la aplicación de esporas en los frutos lo que resultó un método muy eficiente ya que la aspersion por diferentes ángulos del fruto logró un desarrollo diverso del patógeno y no en zonas específicas lo que mostró diferentes porcentajes de infección en los cultivares concordando con (Sánchez, 1982). Además, *M. roreri* germina cuando está cubierta por una cantidad de agua lo cual es facilitado por pulverización (Rodríguez y Suárez, 1973). En efecto en este estudio la inoculación artificial manifestó altos grados de incidencia lo cual permitió estudiar severidad interna y externa, estas variables que son muy importantes para conocer la reacción de las colecciones estudiadas contra *M. roreri* (Phillips, 2003).

4.3. Incidencia, severidad interna y severidad externa

La medición de incidencia, severidad de la moniliasis en cacao ayudan a saber el nivel de desarrollo de *M. roreri* (Arauz, 1998). La incidencia permite saber la capacidad de resistencia y susceptibilidad de genotipos ante *M. roreri* (Sánchez, 1982), la severidad externa pone en manifiesto los síntomas externos de la moniliasis y los signos de *M. roreri* (Ramírez et al., 2011), y la severidad interna determina el nivel de daño de *M. roreri* en las almendras de los frutos de cacao (Phillips et al., 2005).

Las variables de incidencia, severidad interna y severidad externa se evaluaron a los 20, 40 y 60 días post inoculación, encontrándose que *M. roreri* infectó en frutos de todas las edades evaluadas, pero en diferentes grados de desarrollo de la enfermedad. Esta variación en la incidencia puede depender de los genotipos evaluados ya que tienen respuestas diferentes a *M. roreri*.

En cuanto a la visibilidad de los síntomas, Chagua (1997) inoculó mazorcas de cacao de entre 30 y 150 días de edad, encontrando que los síntomas se reflejan entre los 34 y 49 días después de la inoculación. En estudios con frutos mayores a 77 días, se han reportado aparición de síntomas a partir de los 15 hasta 45 días post inoculación (Katip, 1994; Merchán, 1981), mientras que, en frutos inoculados a los 60 días, los síntomas aparecieron a los 21 días (Phillips, 1986). Quizás en el estudio más completo en términos de edades evaluadas (de 20 a 160 días), encontraron que los síntomas aparecieron a partir de los 54 y 78 días después de la inoculación de moniliasis (Aranzazu y Cubillos, 1977). En este estudio los primeros síntomas de severidad interna y severidad externa aparecieron a los 40 días después de la inoculación, aunque no se observó mucha esporulación de *M. rozeri* o momificación en los frutos. Este avanzado síntoma de la enfermedad se vio en mayoría a partir de los 60 días después de la inoculación. El presente estudio reporta resultados más preocupantes ya que la aparición de la esporulación en frutos de CNFA (el índice de severidad externa igual a 4) se observó incluso en algunos frutos evaluados 40 días de inoculados.

La mayoría de los estudios realizados en determinar el nivel del progreso de *M. rozeri* en frutos de cacao se han centrado en la edad de 60 días, pues a esta edad se comienza a formar y desarrollar las almendras (Sánchez, 1982). Para la evaluación de incidencia, severidad interna y externa Paredes (2018), Sánchez y Gónzales (1989), Phillips (1991), Porras, Gónzales, Enriquez y Galindo (1988), Brenes (1983), Maldonado (2015), Phillips et al. (2005) y Sánchez (1982) trabajaron con frutos de 60 días en diversos genotipos de cacao donde precisaron nivel de resistencia y susceptibilidad a *M. rozeri* de los genotipos evaluados. Sin embargo, todos estos estudios dejan en claro que sus resultados no son definitivos y que se deben corroborar para ser relevantes en programas de mejoramiento genético. Los frutos de 60 días de edad evaluados a los 60 días post inoculación en este estudio presentaron una incidencia del (100%) y una severidad interna de 3.75, muy similar a la reportada por Paredes (2018): 100% y 4.8. Es posible que la variación de los niveles de severidad interna se deba al diferente bagaje genético de los genotipos evaluados y a las condiciones ambientales del lugar.

Jaimés et al. (2011) trabajó en frutos de 75 días y sus resultados dependieron de las condiciones del lugar. Cruz (1993) estudió en frutos de 85 días donde sugirió que el parámetro de severidad interna ayuda a determinar la resistencia de un genotipo. En efecto en este trabajo los frutos de 80 días tuvieron condiciones ambientales en similitud y para determinar si un genotipo es resistente o no, se tomó en cuenta los números de repeticiones por genotipo evaluando severidad interna y externa.

Para poder estar seguros y verificar que *M. royeri* prefiera desarrollarse mejor en una edad o tamaño específico del fruto, Suárez (1971) estudió todas las edades de desarrollo del ciclo fisiológico del clon EET 19. Suárez (1971) encontró, que los frutos de 20 a 80 y 160 días son más susceptibles a *M. royeri*. En este estudio, las diferencias encontradas se pueden haber debido a la diferente composición genética de los genotipos. Sin embargo, se encontró que los frutos de 160 días de CNFA fueron los que presentaron mayor porcentaje de incidencia y severidad interna y externa, resultados que concuerdan con los reportados por Suárez (1971). Lo más resaltante es que este estudio proporciona más evidencia de que *M. royeri* está presente en todas las edades de desarrollo del CNFA a pesar de haber manifestado síntomas en diferentes niveles de severidad. Además, es clave mencionar que a los 40 días post inoculación se observa gran desarrollo de *M. royeri* llegando a observarse la esporulación de la enfermedad a diferencia de otros estudios que no se logra manifestar a este tiempo de evaluación Phillips, (1991); Jaimés et al. (2011); Maldonado (2015); y Paredes (2018).

Brenes (1983) encontró que los genotipos más resistentes a la moniliasis provienen del Alto Amazonas de Perú y de la costa del Ecuador. Brenes (1983) también encontró que la rugosidad, el color y dureza del mesocarpio no influyen significativamente en los niveles de severidad externa, interna e incidencia de la moniliasis sobre frutos de cacao. Precisamente, el CNFA es el principal cacao nativo del Alto Amazonas del Perú y cuenta con una variedad morfológica previamente caracterizada (Oliva y Maicelo, 2020). Para este estudio se utilizaron 9 genotipos de la colección Indes: Indes 24, Indes 27, Indes 31, Indes 50, Indes 65, Indes 53, Indes 54, Indes 67, Indes 55, de un total de 146 genotipos Indes de los cuales al momento de la selección se tuvo en cuenta la vigorosidad, historial de rendimiento, tolerancia a plagas y

enfermedades y calidad (Oliva y Maicelo, 2020). Asimismo, se trabajó con siete: A-32, A-50, A-37, A-40, A-74, A-125 Y A-46 de los 136 genotipos que conforman la colección denominadas Cacao Amazonas Perú (CAP), que fueron seleccionados previamente por las cualidades físicas y organolépticas del grano, productividad y rendimiento, un genotipo IMC67 y un CNI. Se dificultó precisar el nivel de respuesta a la inoculación de *M. royeri* de los genotipos indes 50, indes 53, indes 67, indes 55, A-32 y A-50 debido a la falta de repeticiones como resultado del porcentaje de polinización obtenido en el estudio. Por lo tanto, no se contó con suficientes repeticiones para determinar su capacidad de respuesta frente a la inoculación con *M. royeri*.

V. CONCLUSIONES

La inoculación artificial de *M. roreri* en frutos de diferentes edades de CNFA se llevaron a cabo con éxito, y el proceso de infección del patógeno desencadenó el desarrollo de la moniliasis en frutos inoculados. Con respecto a la determinación de incidencia de *M. roreri* en las diferentes edades de frutos de CNFA en respuesta a la inoculación artificial con mayor grado incidencia a moniliasis fueron los frutos de 60, 100, 120, 140 y 160 días, mientras que las edades con menor incidencia fueron 20, 40, 80 días.

La determinación de severidad interna y externa en frutos de CNFA en diferentes edades y tiempos de evaluación asegura que *M. roreri* es capaz de infectar frutos de CNFA a partir de los 20 días de edad en especial con mayor grado de severidad en los frutos adultos de 160 días de edad.

En cuanto a la determinación de edad y tiempo de inoculación en dónde se desarrolla *M. roreri* en frutos de CNFA, en las diferentes edades y evaluados a los 20 días de la inoculación no mostraron síntomas aparentes, afirmando que en campo *M. roreri* no desencadena síntomas visibles en los frutos, sin embargo, en los frutos de CNFA de todas las edades evaluados a los 40 y 60 días post inoculación desarrollaron síntomas de moniliasis en diferentes niveles. Los frutos de CNFA de todas las edades evaluadas (20, 40, 60, 80, 100, 120, 140 y 160 días) presentaron susceptibilidad a *M. roreri* afirmando que todo el ciclo fenológico del desarrollo del fruto de CNFA es capaz de ser afectado por dicha enfermedad.

La mayoría de genotipos de CNFA evaluados presentaron susceptibilidad a *M. roreri* en diferentes niveles. Para algunos genotipos no se puede afirmar un resultado concluyente acerca de la resistencia y susceptibilidad debido a la falta de repeticiones en frutos evaluados. De todos los genotipos evaluados solo Indes 31 mostró absoluta resistencia a *M. roreri* ya que en las veces que se inocularon frutos de este genotipo no se observaron síntomas de moniliasis.

VI. RECOMENDACIONES

- La polinización artificial se recomienda realizarla en las mañanas de 6 a 10 y tardes 4 en adelante teniendo en cuenta que la temperatura es menor a comparación de otras horas del día. Estos horarios permiten una temperatura óptima para el cuajamiento de los frutos. Además, en tiempos de lluvia el porcentaje de cuajamiento es mejor.
- Se recomienda realizar estudios de inter y autocompatibilidad genética para realizar la polinización artificial ya que dificulta el cuajamiento.
- Para la concentración de esporas se recomienda diluir en menos cantidad de agua ya que dificulta en la inoculación artificial, sobre todo en frutos de 20 días de edad.
- Se debe cambiar las bolsas de polietileno con mayor frecuencia ya que los insectos pueden perforar, ingresar y contaminar la mazorca en evaluación.
- Se debe trabajar en todas las edades por genotipo ya que puede variar los resultados como en esta investigación.
- Se recomienda realizar más repeticiones por diferentes genotipos de cacao, de esta manera obtener resultados más concisos en términos de resistencia y susceptibilidad.
- Se debe evaluar a los frutos después de los 40 días post inoculación en diferentes tiempos, para ver el desarrollo completo de la enfermedad.
- Se recomienda tener la ubicación de la parcela cerca del laboratorio, ya que será más rápida y oportuna la inoculación artificial.
- Tener en cuenta las condiciones de temperatura y humedad en la parcela a trabajar, ya que de estas depende el uso de bolsas de polietileno ya que si el lugar es húmedo las bolsas pueden limitar el desarrollo de la enfermedad y propiciar la presencia y desarrollo de otros hongos fitopatógenos.

VII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aneja M., Gianfana, T. y Hebbarb, P. (2006). Trichoderma harzianum produces nonanoic acid, an inhibitor of spore germination and mycelial growth of two cacao pathogens. *ScienceDirect*, 67(6):304-307. doi:10.1016/j.pmpp.2006.05.002.
- Aránzazu, E y cubillos, G. (1977). Observaciones sobre el control y sintomatología de *Monilia roreri* Cif. y Par. En la zona de Urabá, Colombia. *Cacaotero Colombiano*, 2, 24-25.
- Arauz, C. (1998). Fitopatología: Un enfoque agroecológico. San José, Costa Rica. Editorial de la Universidad de Costa Rica. Pág:467.
- Bejarano, G. (1961). *Métodos de inoculación artificial y factores favorables para la infección de Monilia roreri Cif. & Par.* (Tesis de pregrado). Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Brenes, O. (1983). *Evaluación de la resistencia a Monilia roreri y su relación con algunas características morfológicas del fruto de cultivares de cacao (Theobroma cacao L.)* (Tesis de postgrado). Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. Repositorio CATIE.
- Correa, J., Castro, S y Coy, J. (2014). Estado de la moniliasis del cacao causado por *Moniliophthora roreri* en Colombia. *Acta agronómica*,63(4),388-399. <https://doi.org/10.14446/acag,v63n4.42747>.
- Cruz, M. (1993). *Determinación de fuentes de resistencia de cacao de origen nacional al ataque de Monilia roreri (Cif. & Par)* (Tesis de pregrado). Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador.
- Evans, H. (1986). A reassessment of *Moniliophthora roreri* (Monilia) pod rot of cocoa. *Cocoa Growers' Bull.* 37:34-43.
- Hernández, E et al. (2012). "La moniliasis (*Moniliophthora roreri* Cif & Par) del cacao: búsqueda de estrategias de manejo." *AGROProductividad*, 5(6), 3-8.
- Jaimes, Y., Aránzazu, F., Rodríguez, E y Martínez, N. (2011). Comportamiento de clones regionales introducidos de *Theobroma cacao* frente a la infección *Moniliophthora roreri* en tres regiones diferentes de Colombia. *Scielo*,29(2), 361-371.

- Julca, A et al. (2019). Relationship between the incidence and severity of coffee rust (hemileia vastatrix) in san ramón, chanchamayo, Perú. *Revista Ciencia e Investigación*, 4(4): 1-9. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3477556>
- Katip, J. (1994). *Prospección y estudio de la moniliasis (Moniliophthora roreri (Cif. y Par.) Evans Et. Al) del cacao en la Cuenca del Marañón* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria de la Selva Tingo María, Tingo María, Perú.
- López, C. (2015). Expediente técnico para sustentar la solicitud de declaración de protección de la denominación de origen “Cacao criollo Amazonas Perú”.
- López, Y et al. (2020). El cacao peruano y su impacto en la economía nacional. *Universidad y sociedad*, 12(3): 344-352.
- Maldonado, C. (2015). Identificación del material genético de Cacao (*Theobroma cacao* L.) tolerante a la Moniliasis (*Moniliophthora roreri* (cif &par.) Evans et al.) en la Estación Experimental de Sapecho. *Apthapi*, 1(1),52-57.
- Merchán, V. (1981). Avances de Investigación de la Moniliasis del cacao en Colombia In, La Moniliasis del cacao. Compendio de trabajos pendientes presentados en el I Seminario sobre la Moniliasis por el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Turrialba, Costa Rica. Pp. 53-69.
- Oliva, M y Maicelo, J. (2020). Identificación y selección de ecotipos de cacao nativo fino de aroma de la zona nor oriental del Perú. *Agroproducción sustentable*. 4(2), 1-9. DOI:10.25127/aps.20202.556.
- Paredes, R. (2018). *Evaluación de algunos nuevos clones de cacao a la inoculación artificial con moniliophthora roreri (cif. & par.) evans et al., en la estación experimental de Tulumayo* (Tesis de pregrado). Universidad nacional agraria de la selva, Tingo María, Perú. Repositorio institucional URI: <http://repositorio.unas.edu.pe/handle/UNAS/1419>.
- Pérez, L. (2018). *Moniliophthora roreri* H.C. Evans et al. y *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime: impacto, síntomas, diagnóstico, epidemiología y manejo. *Scielo*. 33(1), 2224-4697.
- Phillips, W. (1986). *Evaluación de la resistencia de cultivares de cacao (Theobroma cacao L.) a Moniliophthora roreri (Cif. y Par.) Evans et al.* (Tesis de postgrado). Universidad te Costa Rica, San José, Costa rica. Repositorio

institucional CATIE <http://biblioteca.catie.ac.cr/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=71624>.

- Phillips, W. (1991). Evaluación de la reacción a *Moniliophthora roreri* de cultivares de cacao identificados como resistentes. *American Phytopathological Society*.
- Phillips, W. (2003). *Origin, biogeography, genetic diversity and taxonomic affinities of the cacao (Theobroma cacao L.) fungus Moniliophthora roreri (Cif.) Evans et al. as determined using molecular, phytopathological and morpho-physiological evidence* (Tesis de doctorado). The University of Reading, UK. 349 pág.
- Phillips, W., Castillo, J., Krauss, U., Rodríguez, E y Wilkison, M. (2005). Evaluación de clones de cacao (*Theobroma cacao*) contra siete aislados colombianos de *Moniliophthora roreri* de cuatro grupos genéticos de patógenos. *British society for plant pathology*, 54(4), 483-490. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01210.x>
- Porras, V., Gónzales, L., Enriquez, G y Galindo, J. (1988). Determinación de la estabilidad de la tolerancia a *Moniliophthora roreri* en cultivares de cacao en dos zonas de Costa Rica. *Fitopatología (Perú)*, 23(2), 87-94.
- Ramírez, S et al. (2011). El polisulfuro de calcio en el manejo de la moniliasis *Moniliophthora roreri* (Cif & Par). *Evans et al. del cacao Theobroma cacao L. Tecnología en marcha*, 24(4), 10-18. ISSN 0379-3962, ISSN-e 2215-3241
- Rios, R. (2004). *Epidimiologia e manejo de monilíase do cacaoueiro no Perú* (tesis de doctorado). Universidad Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.
- Rodríguez, M y Suárez, C. (1973). Avances en la investigación sobre *Monilia roreri* del cacao en el Ecuador, Guayaquil, Ecuador.
- Roncal, M. (2004). Principios de la patología andina. Primera edición. Impreso en Perú. Universidad nacional de Cajamarca. Cajamarca- Perú. Pág: 422.
- Samayoa, J y Sánchez, V. (2000). Importancia de la sombra en la incidencia de enfermedades en café orgánico y convencional. *Agroforestería de la Américas*, 7 (26): 34 - 36.
- Sánchez, F y Garcés, F. (2012). *Moniliophthora roreri* (Cif y Par) *Evans et al.* en el cultivo de cacao. *Redalyc.org*, 3(3), 249-258.

- Sánchez, J y Gónzales, L. (1989). Metodología para evaluar la susceptibilidad a moniliasis en cultivares de cacao (*Theobroma cacao*). *ICCA*, 39(4), 461-468.
- Sánchez, J. (1982). *Reacción de cultivares de cacao a la inoculación artificial con Monilia roreri* (Tesis de postgrado). Universidad de Costa Rica, Costa Rica. Repositorio institucional CATIE <http://hdl.handle.net/11554/10520>.
- Sterling, A et al. (2015). Reacción a *Moniliphthora roreri* en *Theobroma ssp.* En Caquetá, Colombia. *Summa Phytopathologica*, 41(3),183-190. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/2026>.
- Suárez, C. (1971). *Estudio del mecanismo de penetración y del proceso de infección de Monilia roreri Cif. & Par. en frutos de cacao (Theobroma cacao L L.)*, (tesis de Pregrado). Universidad de Guayaquil, Guayaquil - Ecuador.
- Valderrama, J., Leiva, S y Aime, C. (2020). The history of cacao its deseases in the Americas. *The American Phytopathological Societ*, 110(10),1604-1619. 10.1094/PHYTO-05-20-0178-RVW.
- Vera, J y Vera, J. (2018). *Polinización artificial para incrementar la productividad en huertas y la obtención de cruces internacionales de cacao (theobroma cacao l)*. Editorial Grupo Compás, Guayaquil Ecuador, 53 pág.
- Wickham, H. (2010). Ggplot2: Elegant Graphics for data Analysis – Bookreview. *Journal of statistical software*, 35(July), 1-3. <http://had.co.nz/ggplot2/book>

ANEXOS

Anexo 1. Materiales para la polinización artificial



Tubos de jeringa plásticos



Plastilina



Tela tocuvo



Ligas plásticas



Protector de flores












Depósito de plástico



Pinza acero inoxidable



Anexo 2. Ciclo fenológico de los frutos de cacao.

		
20 DÍAS	40 DÍAS	60 DÍAS
		
160 DÍAS		80 DÍAS
		
140 DÍAS	120 DÍAS	100 DÍAS

Anexo 3. Embolsado de frutos de cacao



Anexo 4. Evaluación de los frutos infectados



Anexo 5. Evaluación de los frutos sanos



Anexo 6. Frutos con esporulación



Anexo 7. Aislamiento de Moniliasis de frutos enfermos



Anexo 8. Fechas de polinización, inoculación y evaluación del proyecto de tesis

FECHA ACTUAL				Vencen hoy	Vencidos	De 1 a 3 días	Faltan mas de 3 días		
	9/07/2021			0	78	0	0		
SEMANAS	FECHA DE POLINIZACIÓN/ DÍA	FRUTOS PROSPERADOS	DÍAS TRANSCURRIDOS	DÍAS A VENCER	FECHA DE INOCULACIÓN	PRIMERA FECHA DE EVALUACIÓN (20 DÍAS)	SEGUNDA FECHA DE EVALUACIÓN (40 DÍAS)	TERCERA FECHA DE EVALUACIÓN (60 DÍAS)	ALERTA
INFECTADA EL 23/03/21, 24/03/21 Y 25/03/21 FRUTOS DE 160 DÍAS	14/10/2020	C-14-1	INFECTADA	160	23/03/2021	12/04/2021	2/05/2021	22/05/2021	Faltan 160 días
		C-14-2	INFECTADA	160	23/03/2021	12/04/2021	2/05/2021	22/05/2021	Faltan 160 días
	15/10/2020	C-15-1	INFECTADA	160	24/03/2021	13/04/2021	3/05/2021	23/05/2021	Faltan 160 días
		C-15-2	INFECTADA	160	24/03/2021	13/04/2021	3/05/2021	23/05/2021	Faltan 160 días
		C-15-3	INFECTADA	160	24/03/2021	13/04/2021	3/05/2021	23/05/2021	Faltan 160 días
		C-15-4	INFECTADA	160	24/03/2021	13/04/2021	3/05/2021	23/05/2021	Faltan 160 días
		C-15-5	INFECTADA	160	24/03/2021	13/04/2021	3/05/2021	23/05/2021	Faltan 160 días
		C-15-6	INFECTADA	160	24/03/2021	13/04/2021	3/05/2021	23/05/2021	Faltan 160 días
		C-15-7	INFECTADA	160	24/03/2021	13/04/2021	3/05/2021	23/05/2021	Faltan 160 días
		C-15-8	INFECTADA	160	24/03/2021	13/04/2021	3/05/2021	23/05/2021	Faltan 160 días
	16/10/2020	C-16-1	INFECTADA	160	25/03/2021	14/04/2021	4/05/2021	24/05/2021	Faltan 160 días
		C-16-2	INFECTADA	160	25/03/2021	14/04/2021	4/05/2021	24/05/2021	Faltan 160 días
		C-16-3	INFECTADA	160	25/03/2021	14/04/2021	4/05/2021	24/05/2021	Faltan 160 días
		C-16-4	INFECTADA	160	25/03/2021	14/04/2021	4/05/2021	24/05/2021	
		C-16-5	INFECTADA	160	25/03/2021	14/04/2021	4/05/2021	24/05/2021	
		C-16-6	INFECTADA	160	25/03/2021	14/04/2021	4/05/2021	24/05/2021	
C-16-7		INFECTADA	160	25/03/2021	14/04/2021	4/05/2021	24/05/2021		
C-16-8		INFECTADA	160	25/03/2021	14/04/2021	4/05/2021	24/05/2021		

INFECTADA EL 23/01/21 Y 09/01/21 FRUTOS DE 60 DÍAS		C-24-10	INFECTADA	60	23/01/2021	12/02/2021	4/03/2021	24/03/2021	Faltan 60 días	
		C-24-11	INFECTADA	60	23/01/2021	12/02/2021	4/03/2021	24/03/2021	Faltan 60 días	
		C-24-12	INFECTADA	60	23/01/2021	12/02/2021	4/03/2021	24/03/2021	Faltan 60 días	
		C-24-13	INFECTADA	60	23/01/2021	12/02/2021	4/03/2021	24/03/2021	Faltan 60 días	
		C-24-14	INFECTADA	60	23/01/2021	12/02/2021	4/03/2021	24/03/2021	Faltan 60 días	
	11/12/2020	C-11-1	INFECTADA	60	9/02/2021	1/03/2021	21/03/2021	10/04/2021	Faltan 60 días	
		C-11-2	INFECTADA	60	9/02/2021	1/03/2021	21/03/2021	10/04/2021	Faltan 60 días	
		C-11-3	INFECTADA	60	9/02/2021	1/03/2021	21/03/2021	10/04/2021	Faltan 60 días	
		C-11-4	INFECTADA	60	9/02/2021	1/03/2021	21/03/2021	10/04/2021	Faltan 60 días	
		C-11-5	INFECTADA	60	9/02/2021	1/03/2021	21/03/2021	10/04/2021	Faltan 60 días	
C-11-6		INFECTADA	60	9/02/2021	1/03/2021	21/03/2021	10/04/2021	Faltan 60 días		
INFECTADA EL 23/02/21 Y 25/02/21 FRUTOS DE 40 DÍAS	14/01/2021	C-14-1	INFECTADA	40	23/02/2021	15/03/2021	4/04/2021	24/04/2021	Faltan 40 días	
		C-14-2	INFECTADA	40	23/02/2021	15/03/2021	4/04/2021	24/04/2021	Faltan 40 días	
		C-14-3	INFECTADA	40	23/02/2021	15/03/2021	4/04/2021	24/04/2021	Faltan 40 días	
		C-14-4	INFECTADA	40	23/02/2021	15/03/2021	4/04/2021	24/04/2021	Faltan 40 días	
		C-14-5	INFECTADA	40	23/02/2021	15/03/2021	4/04/2021	24/04/2021	Faltan 40 días	
		C-14-6	INFECTADA	40	23/02/2021	15/03/2021	4/04/2021	24/04/2021	Faltan 40 días	
		C-14-7	INFECTADA	40	23/02/2021	15/03/2021	4/04/2021	24/04/2021	Faltan 40 días	
		C-14-8	INFECTADA	40	23/02/2021	15/03/2021	4/04/2021	24/04/2021	Faltan 40 días	
		C-16-1	INFECTADA	40	25/02/2021	17/03/2021	6/04/2021	26/04/2021	Faltan 40 días	
		C-16-2	INFECTADA	40	25/02/2021	17/03/2021	6/04/2021	26/04/2021	Faltan 40 días	
		C-16-3	INFECTADA	40	25/02/2021	17/03/2021	6/04/2021	26/04/2021	Faltan 40 días	
		C-16-4	INFECTADA	40	25/02/2021	17/03/2021	6/04/2021	26/04/2021	Faltan 40 días	
	INFECTADA EL 26/02/21 Y 28/02/21 FRUTOS DE 20 DÍAS	8/02/2021	C-08-1	INFECTADA	20	28/02/2021	20/03/2021	9/04/2021	29/04/2021	Faltan 20 días
			C-08-2	INFECTADA	20	28/02/2021	20/03/2021	9/04/2021	29/04/2021	Faltan 20 días
C-08-3			INFECTADA	20	28/02/2021	20/03/2021	9/04/2021	29/04/2021	Faltan 20 días	
C-08-4			INFECTADA	20	28/02/2021	20/03/2021	9/04/2021	29/04/2021	Faltan 20 días	
C-08-5			INFECTADA	20	28/02/2021	20/03/2021	9/04/2021	29/04/2021	Faltan 20 días	
C-08-6			INFECTADA	20	28/02/2021	20/03/2021	9/04/2021	29/04/2021	Faltan 20 días	
C-08-7			INFECTADA	20	28/02/2021	20/03/2021	9/04/2021	29/04/2021	Faltan 20 días	
C-08-8			INFECTADA	20	28/02/2021	20/03/2021	9/04/2021	29/04/2021	Faltan 20 días	
C-08-9			INFECTADA	20	28/02/2021	20/03/2021	9/04/2021	29/04/2021	Faltan 20 días	
C-08-10			INFECTADA	20	28/02/2021	20/03/2021	9/04/2021	29/04/2021	Faltan 20 días	
C-08-11			INFECTADA	20	28/02/2021	20/03/2021	9/04/2021	29/04/2021	Faltan 20 días	
C-08-12			INFECTADA	20	28/02/2021	20/03/2021	9/04/2021	29/04/2021	Faltan 20 días	
C-08-13			INFECTADA	20	28/02/2021	20/03/2021	9/04/2021	29/04/2021	Faltan 20 días	
C-08-14			INFECTADA	20	28/02/2021	20/03/2021	9/04/2021	29/04/2021	Faltan 20 días	

Anexo 9: Evaluación de los frutos de CNFA

CÓDIGO	EDAD	GENOTIPO	TIEMPO DE EVALUACIÓN	S.	S.	INCIDENCIA
				INTERNA	EXTERNA	
C-06-1	20	INDES 27	20	0	0	0
C-08-10	20	INDES 31	20	0	0	0
C-08-11	20	IMC67	20	0	0	0
C-08-14	20	IMC67	20	0	0	0
C-06-3	20	A-125	40	0	0	0
C-08-2	20	IMC67	40	0	0	0
C-08-6	20	INDES 65	40	0	0	0
C-08-12	20	INDES 24-	40	5	5	1
C-06-2	20	INDES 24	60	5	3	1
C-08-3	20	INDES 31	60	0	0	0
C-08-4	20	A-37	60	5	5	1
C-08-7	20	CNI RE	60	0	0	0
C-14-5	40	INDES 31	20	0	0	0
C-14-6	40	INDES 55	20	0	0	0
C-16-5	40	IMC67	20	0	0	0
C-16-8	40	A-40	20	0	0	0
C-14-6	40	INDES 27	40	0	0	0
C-14-7	40	INDES 31	40	0	0	0
C-16-3	40	IMC67	40	0	0	0
C-16-4	40	INDES 24	40	5	5	1
C-14-2	40	INDES 24	60	5	4	1
C-14-3	40	IMC67	60	0	0	0
C-14-4	40	INDES 31	60	0	0	0
C-16-2	40	INDES 54	60	2	3	1
C-24-7	60	INDES 27	20	0	0	0
C-24-9	60	INDES 65	20	0	0	0
C-24-10	60	INDES 31	20	0	0	0
C-24-11	60	CNI	20	0	0	0
C-24-4	60	IMC67	40	0	2	1
C-24-5	60	INDES 53	40	2	3	1
C-24-6	60	INDES 27	40	0	1	1
C-11-5	60	INDES 53	40	1	1	1
C-24-8	60	IMC67	60	5	5	1
C-24-13	60	INDES 65	60	1	2	1
C-24-14	60	A-50	60	5	4	1
C-11-3	60	INDES 24	60	4	4	1

C-13-2	80	A-46	20	0	0	0
C-13-8	80	IMC67	20	0	0	0
C-14-3	80	INDES 31	20	0	0	0
C-14-10	80	INDES 50	20	0	0	0
C-13-3	80	INDES 31	40	0	0	0
C-13-4	80	INDES 54	40	0	0	0
C-14-5	80	IMC67	40	0	0	0
C-14-8	80	A-46	40	0	0	0
C-13- 6	80	A-32	60	0	0	0
C-14-1	80	INDES 31	60	0	0	0
C-14-7	80	A-40	60	2	2	1
C-15-5	80	A-37	60	5	5	1
C-28-1	100	A-74	20	0	0	0
C-28-2	100	INDES 54	20	0	0	0
C-27-14	100	INDES 67	20	0	0	0
C-27-15	100	CNI	20	0	0	0
C-28-3	100	CNI SU	40	0	1	1
C-28-7	100	IMC67	40	0	0	0
C-28- 9	100	A-37	40	2	3	1
C-28-13	100	INDES 31	40	0	0	0
C-27- 13	100	INDES 31	60	0	0	0
C-28- 6	100	A-46	60	1	1	1
C-28- 8	100	A-37	60	4	3	1
C-28-10	100	A-37	60	2	2	1
C-23-5	120	IMC67	20	0	0	0
C-23-6	120	A-74	20	0	0	0
C-23-9	120	A-125	20	0	0	0
C-23-12	120	A-40	20	0	0	0
C-23-4	120	CNI	40	0	0	0
C-23-11	120	INDES 54	40	0	0	0
C-27-1	120	INDES 27	40	0	1	1
C-27-8	120	CNI	40	0	0	0
C-23-10	120	CNI SU	60	1	1	1
C-27-5	120	A-125	60	3	4	1
C-27-6	120	INDES 24	60	1	1	1
C-27-7	120	CNI	60	1	2	1

C-23-5	140	INDES 27	20	0	0	0
C-23-6	140	IMC67	20	0	0	0
C-23-9	140	A-74	20	0	0	0
C-23-12	140	A-125	20	0	0	0
C-23-4	140	INDES 54	40	0	0	0
C-23-11	140	INDES 27	40	0	0	0
C-27-1	140	CNI	40	0	0	0
C-27-8	140	A-74	40	0	0	0
C-21-1	140	INDES 27	60	3	4	1
C-22-3	140	A-125	60	3	3	1
C-22- 7	140	CNI	60	3	3	1
C-23-1	140	A-46	60	5	5	1
C-14-2	160	IMC67	20	0	0	0
C-15-2	160	IMC67	20	0	0	0
C-15-8	160	A-125	20	0	0	0
C-16-6	160	CNI	20	0	0	0
C-14-1	160	A-46	40	3	4	1
C-15-7	160	A-125	40	3	3	1
C-16-4	160	CNI	40	5	5	1
C-16-7	160	IMC67	40	5	4	1
C-14-1	160	CNI	60	3	3	1
C-15-5	160	INDES 27	60	3	3	1
C-16-1	160	INDES 24	60	5	5	1
C-16-9	160	CNI	60	5	5	1

Anexo 10. Promedios de incidencia, severidad interna y severidad externa

Edad	evaluation_time	internal_severity	external_severity	incidence
20	20	0	0	0
20	40	1.25	1.25	0.25
20	60	2.5	2	0.5
40	20	0	0	0
40	40	1.25	1.25	0.25
40	60	1.75	1.75	0.5
60	20	0	0	0
60	40	0.75	1.75	1
60	60	3.75	3.75	1
80	20	0	0	0
80	40	0	0	0
80	60	1.75	1.75	0.5
100	20	0	0	0
100	40	0.5	1	0.5
100	60	1.75	1.5	0.75
120	20	0	0	0
120	40	0	0.25	0.25
120	60	1.5	2	1
140	20	0	0	0
140	40	0	0	0
140	60	3.5	3.75	1
160	20	0	0	0
160	40	4	4	1
160	60	4	4	1

Anexo 11. Evaluación post inoculación de resistencia y susceptibilidad a en diferentes edades de CNFA

		TIEMPO DE LA APARICIÓN DE SÍNTOMAS		
		20 DÍAS	40 DÍAS	60 DÍAS
GENOTIPOS	Indes 31	0	0	0
	Indes 54	0	0	60
	Indes 27	0	40	60
	Indes 65	0	0	60
	Indes 24	0	40	60
	A-37	0	40	60
	A-74	0	0	60
	A-46	0	40	60
	A-40	0	0	60
	A-125	0	40	60
	IMC67	0	40	60
	CNI	0	40	60