UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAÑETE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMIA

"Evaluación de la eficacia *in vitro* de fungicidas residuo cero sobre *Cladosporium ramotenellum* patógeno, asociado a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*), Cañete"

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGRÓNOMO

AUTOR:

Estefanía Trujillo Quispe

ASESOR:

Dr. Luis Armando Álvarez Bernaola

ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6174-9870

San Vicente de Cañete, 2026, Perú

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAÑETE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMIA

"Evaluación de la eficacia *in vitro* de fungicidas residuo cero sobre *Cladosporium ramotenellum* patógeno, asociado a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*), Cañete"

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTADA POR:

Estefanía Trujillo Quispe

APROBADO POR:

FIRMA DIGITAL
Firmado digitalmente por: LEON TTACCA Betsabe FAU 20491363402 hard
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 27/08/2026 11:28:55-0500

.....

Dra. Betsabé León Ttacca
Presidente

.....

Dr. Manuel Alfredo Ñique Álvarez
Secretario

REPÚBLICA DEL PERÚ Firma Digital
Firmado digitalmente por: GARCIA RUIZ Maria Luisa FIR 21822024 hard
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 07/09/2026 11:29:44-0500

.....

Mg. María Luisa García Ruíz
Vocal

REPÚBLICA DEL PERÚ Firma Digital
Firmado digitalmente por: ALVAREZ BERNAOLA Luis Armando FAU 20491363402 hard
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 27/08/2026 08:46:42-0500

.....

Dr. Luis Armando Álvarez Bernaola
Asesor

Código Nº 002-2026

CONSTANCIA DE VERIFICACIÓN DE SIMILITUD Y ORIGINALIDAD

Yo, Betsabé León Ttacca, Directora de la Unidad de Investigación de la Facultad de Ciencias Agrarias, declaro que se ha realizado la verificación de similitud mediante el programa informático correspondiente, respecto al siguiente trabajo académico:

Título:
"Evaluación de la eficacia *in vitro* de fungicidas residuo cero sobre *Cladosporium ramotenellum* patógeno, asociado a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*), Cañete""

Autor (es):
Estefanía Trujillo Quispe

Para optar el grado académico y/o título profesional de:
Ingeniero Agrónomo

El proceso de verificación de similitud determinó un porcentaje de 19%, cuyo resultado se encuentra respaldado en el reporte automatizado que se adjunta. En atención a ello, y conforme a lo establecido en el Reglamento de Similitud y Originalidad de la Universidad Nacional de Cañete, se deja constancia que el trabajo académico presentado cumple con los principios de integridad científica, así como con las disposiciones normativas vigentes en materia de citación y referenciación.
Asimismo, se adjunta el recibo digital correspondiente, a fin de garantizar la trazabilidad del proceso.

ORIGINALIDAD	SIMILITUD
80%	20%

Cañete, 16 de marzo del 2026

Firma

Se adjunta:

- Resumen del reporte automatizado de similitud
- Recibo Digital



Firmado digitalmente por:
LEON TTACCA BETSABE FIR
41288646 hard
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 16/03/2026 15:22:19-0500

Toda copia de este documento, sea del entorno virtual o del documento original en físico es considerada "copia no controlada".

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGRÓNOMO

En el distrito de San Luis, provincia de Cañete, en el Auditorio del Pabellón Multiusos del Campus Universitario del Local Académico SL05, siendo las 09:00 horas del día viernes 27 de marzo de 2026, se reunieron los miembros del Jurado Evaluador y el asesor, designados mediante R.C.F.C.A. N° 196-2025-CFCA/UNDC.

Presidente : Dra. Betsabé León Ttacca
Secretario : Dr. Manuel Alfredo Ñique Álvarez
Vocal : Mg. María Luisa García Ruiz
Asesor : Dr. Luis Armando Álvarez Bernaola

Para el acto de sustentación de la tesis titulada: "Evaluación de la eficacia in vitro de fungicidas residuo cero sobre *Cladosporium ramotenellum*, patógeno asociado a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*) Cañete"; presentado por la Bachiller (es) Estefanía Trujillo Quispe, para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo.

Después de concluido el acto de sustentación y luego de que el sustentante dio respuesta a las preguntas respectivas, el Jurado Evaluador calificó la sustentación o defensa de la investigación según los siguientes criterios, y promediando las notas del jurado se obtuvo:

Criterio	Desaprobado (menor de 14)	Regular (14 -15)	Bueno (16-17)	Muy bueno (18-19)	Excelente (20)	Puntaje
Claridad de la exposición				18		18
Dominio del tema				19		19
Capacidad de respuesta			16			16
Argumentación académica			17			17
Promedio						18

**** Para el caso de sustentación de dos personas se debe incorporar dos cuadros, uno para cada uno.**

Para obtener la nota final de todo el proceso de investigación, se procedió a calcular la nota final:

Nota del Informe (valor 50%)	Nota de Sustentación (valor 50%)	Nota Final
17	18	18

(*) Cálculo: (Nota Informe * 0.50) + (Nota de Defensa * 0.50) = Nota final
En el caso de existir dos sustentantes, se deberá incluir una columna adicional a la izquierda, consignando los nombres de cada uno, a fin de realizar la calificación de manera individual.

Toda copia de este documento, sea del entorno virtual o del documento original en físico es considerada "copia no controlada"

Y, establece como calificación FINAL: ..18.... (...Dieciocho.....)

- Aprobado, con nota Regular ( ), Bueno ( ), Muy Bueno (X), Excelente ( )
- Desaprobado ( )

Por tanto, el graduado(s) se encuentra expedito(s) (X), impedido(s) ( ) para realizar los trámites que corresponden a la obtención del Título Profesional de Ingeniero Agrónomo.

****Si fuera el caso, que de los dos sustentantes uno fuera aprobado y otro desaprobado, se tendrá que diferenciar quien queda expedito y quien impedido de seguir los trámites.**

Siendo las 10 horas, se dio por concluido el acto de sustentación.

Dr. Manuel Alfredo Ñique Álvarez **Secretario**	Dra. Betsabé León Ttacca **Presidente**	Mg. María Luisa García Ruiz **Vocal**	Dr. Luis Armando Álvarez Bernaola **Asesor**

Toda copia de este documento, sea del entorno virtual o del documento original en físico es considerada "copia no controlada"

DEDICATORIA

Dedico este trabajo

A quienes creen que el verdadero logro no es la meta alcanzada, sino la persona en la se convierte recorriendo el camino.

A Dios ser la luz en la oscuridad, mi fortaleza y esperanza en cada paso de este camino. Gracias por brindarme la sabiduría y la paciencia necesarias para llegar hasta aquí.

A mi querido hijo, que en paz descanse. Esta tesis es un homenaje a tu amor, a tu llegada y pronta partida. Siempre vivirás en mi corazón.

A mi madre, por su amor incondicional, apoyo, valentía y sacrificio a lo largo de mi vida. Por mostrarme con su ejemplo que el verdadero significado del sacrificio y perseverancia.

A mis hermanos, por ser mi constante fuente de motivación y por su presencia en cada paso de este camino.

Y me lo dedico a mí misma, porque aprendí que el verdadero logro no es llegar, sino crecer en cada paso del trayecto. La vida no premia solo la meta conquistada, premia a quien se atreve a recorrer el camino con fe, determinación y propósito.

AGRADECIMIENTO

Gracias a todos los que hicieron parte de este recorrido, porque entendí que cada paso, incluso los más difíciles, fue necesario para llegar aquí.

A mi asesor, el Dr. Luis Álvarez Bernaola, por su invaluable apoyo y guía. Gracias por su paciencia, conocimientos y por ayudarme a dar forma a esta investigación con su experiencia.

A mis hermanos, por su apoyo incondicional durante todo este proceso. A mi madre, quien siempre ha sido mi principal fuente de inspiración y motivo para no rendirme, sin su ánimo y confianza, este logro no hubiera sido posible

A mi pareja, por su compañía y por ser mi refugio en los momentos difíciles. Gracias por sus palabras de aliento y por estar siempre a mi lado.

Mi gratitud es para todas las personas que, con su apoyo, sus consejos y hasta con los más pequeños detalles, hicieron posible este trabajo.

Y a ti, mi querido hijo, que, aunque tu ausencia es física, tu presencia vive en mi corazón y en cada paso de este camino. Este logro también lleva tu nombre.

ÍNDICE

DEDICATORIA 6
AGRADECIMIENTO 7
LISTA DE TABLAS 12
LISTA DE FIGURAS 13
RESUMEN 14
ABSTRACT 15
INTRODUCCIÓN 16
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 18
1.1. Descripción de la realidad problemática 18
1.2. Formulación del problema 18
1.2.1. Problema general 18
1.2.2. Problema específico 18
1.3. Objetivo 19
1.3.1. Objetivo general 19
1.3.2. Objetivos específicos 19
1.4. Justificación 19
1.5. Delimitación de la investigación 20
1.5.1. Delimitación teórica 20
1.5.2. Delimitación temporal 20
1.5.3. Delimitación espacial 20
II. MARCO TEÓRICO Y EMPERÍCO 21
2.1. Bases teóricas 21
2.1.1. Origen y distribución del cultivo de mandarina 21
2.1.2. Taxonomía 22
2.1.3. Descripción botánica de la mandarina 22
2.1.4. Enfermedades de mandarina 23

2.1.4.1. Antracnosis de los cítricos (*Colletotrichum spp*).....23
2.1.4.2. *Penicillium digitatum*.....23
2.1.4.3. Alternaria sp.....23
2.1.4.4. La "podredumbre gris",.....24
2.1.4.5. *Cladosporium* sp.....24
2.1.5. Definición de la “Mancha de hollín” (*Cladosporium ramotenellum)*.....25
2.1.5.1. Patógeno causal de la “Mancha de hollín”.....25
2.1.5.2. Clasificación taxonómica.....26
2.1.5.3. Descripción morfológica.....26
2.1.5.4. Ciclo biológico de *Cladosporium*.....28
2.1.5.5. Condiciones ambientales.....28
2.1.5.6. Proceso de infección.....29
2.1.5.7. Síntomas y signos de la enfermedad.....30
2.1.6. La técnica del medio envenenado.....30
2.1.7. Fungicidas para el control de *Cladosporium*.....30
2.1.7.1. Serenade ASO (*Bacillus amyloliquefaciens*).....30
2.1.7.2. Serefiel (*Bacillus amyloliquefaciens*).....31
2.1.7.3. Bacitab-s (*Bacillus* subtilis).....31
2.1.7.4. Barrera SL (Extracto de orégano).....31
2.1.7.5. Timorex Gold (Extracto de *Melaleuca*).....32
2.1.7.6. Desfan (Extracto de semilla de toronja).....32
2.1.7.7. Bestcure (Extracto de semilla de toronja).....32
2.1.7.8. BC -1000 (Extracto semilla de toronja).....33
2.1.7.9. Biofarm (Extracto de *Larrea tridentata*).....33
1.1.7.10 . Ixibio Metabolitos.....33
2.1.7.11. Kaligreen (Bicarbonato de potasio).....34
2.1.7.12. Biko (Bicarbonato de potasio).....34

2.1.7.13. Jambo (Metabolitos bacterianos) 34
2.1.7.14. Soil set (Metabolitos bacterianos) 35
2.1.7.15. Copper Crop (Cobre orgánico) 35
2.1.7.16. Trichotap (*Trichoderma* sp) 35
2.1.7.17. TrichoVIT Plus (*Trichoderma* sp) 36
2.1.7.18. Luna tranquility (Fluopyram + pyrimethanil) 36
2.1.7.19. Score (Difenoconazol) 36
2.1.7.20. Atena (Bacillus spp) 36
2.2. Antecedentes 37
A. Antecedentes nacionales 37
B. Antecedentes internacionales 37
2.3. Definición de términos básicos 46
III. HIPÓTESIS Y VARIABLES 49
3.1. Hipótesis 49
3.1.1. Hipótesis general 49
3.1.2. Hipótesis especifica. 49
3.2. Definición conceptual de variables 49
3.2.1. Variable independiente 49
3.2.2. Variable dependiente 50
3.3. Operacionalización de variables 50
IV. DISEÑO METODOLÓGICO 52
4.1. Tipo de investigación 52
4.2. Diseño de investigación 52
4.3. Método de la investigación 53
4.4. Población y muestra. 54
4.4.1. Población 54
4.4.2. Muestra 54

4.5. Lugar de estudio....54
4.5.1. Ubicación geográfica del ensayo....54
4.5.2. Ubicación política del ensayo....54
4.6. Procedimiento de la investigación....55
4.6.1. Colecta de muestras de *Cladosporium*:....55
4.6.2. Preparación de medio de cultivo para el aislamiento....56
4.6.3. Procesamiento de muestras en laboratorio....57
4.6.4. Aislamiento de muestras.....59
4.6.5. Repique....59
4.6.6. Identificación del patógeno.....59
4.6.6.1. Identificación a nivel de género....60
4.6.6.2. Identificación a nivel de especie.....60
4.6.7. Preparación del alimento envenenado....60
4.6.8. Plaqueo....61
4.6.9. Siembra del patógeno....61
4.6.10. Evaluación de eficacia de los fungicidas *in vitro*....61
4.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....62
4.8. Análisis y procesamientos de datos....62
V. RESULTADO....63
5.1. Resultados descriptivos....63
5.2. Resultados inferenciales....83
VI. DISCUSIÓN DE RESULTADO....86
VII. CONCLUCIONES....92
VIII. RECOMENDACIONES....94
IX. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA....95
X. ANEXO....105

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Operacionalización de variables 51
Tabla 2 Identificación de tratamientos según su categoría. 52
Tabla 3 Resultados de las pruebas de Normalidad y Homogeneidad de Varianza. 62
Tabla 4 Efecto de extractos vegetales y productos orgánicos sobre el crecimiento micelial (mm/días) de *Cladosporium ramotenellum* del día 2 al día 20. 64
Tabla 5 Efecto de los extractos vegetales y productos orgánicos sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* del día 2 al día 20. 68
Tabla 6 Efectos de los productos químicos sobre el crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* del día 2 al día 20. 72
Tabla 7 Efecto de los productos químicos sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* del día 2 hasta el día 20. 74
Tabla 8 Efectos de los productos biológicos sobre el crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* evaluados del día 2 al día 20 78
Tabla 9 Efecto de los productos biológico sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* del día 2 al día 20. 80
Tabla 10 Efectos de los fungicidas residuo cero sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* del día 2 al día 20. 82
Tabla 11 Análisis de varianza del crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* a los 20 días después de su inoculación en medio envenenado de extractos vegetales. 84
Tabla 12 Análisis de varianza de inhibición de crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* por productos químico. 84
Tabla 13 Análisis de varianza de inhibición de crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* por productos químico. 85

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Síntomas característicos de mancha negra o fumagina causada por *Cladosporium ramotenellum* en frutos de mandarina (Citrus reticulata) 25
Figura 2 Morfología microscópica del crecimiento de *Cladosporium ramotenellum* PDA…27
Figura 3 Ciclo de infección de *Cladosporium ramotenellum.*.....29
Figura 4 Aleatorización de tratamientos.....53
Figura 5 Recolección de muestras. 56
Figura 6 Preparación del medio de cultivo. 57
Figura 7 Diluciones seriadas.....58
Figura 8 Procesamiento de muestras en laboratorio. 58
Figura 9 Repique de muestras aisladas. 59
Figura 10 Efecto de extractos vegetales y productos orgánicos sobre el crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* bajo la acción de extractos vegetales del día 2 al 20.....65
Figura 11 Efecto de los extractos vegetales y productos orgánicos sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* del día al día 20. 69
Figura 12 Efecto de los productos químicos sobre el crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* del día 2 al día 20.....73
Figura 13 Efectos de los productos químicos sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* del día 2 al día 20. 75
Figura 14 Efectos de los productos biológicos sobre el crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* evaluados del día 2 al día 20.....79
Figura 15 Efecto de los fungicidas residuo cero sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* del día 2 al día 20. 83

RESUMEN

La “mancha de hollín” es una enfermedad de gran importancia económica en mandarinas (*Citrus reticulata*), debido a que provoca manchas oscuras superficiales, secas y firmes en la cascara del fruto, este daño es una infección latente que aparece en post cosecha. Los productos residuo cero tienen una creciente relevancia en cultivos de exportación debido a que generan acumulación de compuestos detectables en cromatografía, reduciendo el riesgo de rechazos en frontera. En esta investigación se evaluó la eficacia *in vitro* de fungicidas residuo cero sobre cepas de *Cladosporium ramotenellum* patógeno asociado a la “mancha de hollín” en mandarina (*Citrus reticulata*). Se utilizó bajo un diseño completo al azar (DCA) con 22 tratamientos (entre ellos de composición química, biológica y de extractos vegetales) más 1 testigo, con 3 repeticiones (placas) cada uno. Las variables evaluadas fueron: el crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* en presencia de extractos vegetales, químicos y biológicos, utilizando indicadores de tasa de crecimiento y diámetro de las colonias. Los tratamientos T15 (Jambo – Metabolitos bacterianos) y T20 (Luna tranquility), fueron los más eficaces, teniendo inhibición completa del crecimiento micelial durante los 20 días de evaluación sin registrar aumento en el diámetro de su colonia desde su inoculación. El T4 (Bacitab-s – *Bacillus subtilis*) presento un crecimiento micelial moderado durante los primeros días alcanzando una media de 17.83 mm de diámetro y a partir del día 10 detuvo el crecimiento por completo del patógeno, finalizando la investigación con 72.83% de inhibición. Los resultados en esta investigación muestran en promedio que los productos químicos logran un control rápido y elevado en los primeros días (4–6), aunque con una ligera reducción hacia el final del periodo evaluado. En contraste, los biológicos, pese a iniciar con eficacia moderada, incrementan progresivamente su acción alrededor del día 10 y alcanzando más del 80% de inhibición. Los extractos vegetales ofrecen un control inicial limitado pero constante, alcanzando un 65% de inhibición.

Palabras claves: Fungicida residuo cero, *in vitro,* alimento envenenado, enfermedades post cosecha en cítricos.

ABSTRACT

Sooty blotch is a disease that has a significant economic impact on late-season mandarins (*Citrus reticulata*) in the Lima and Ica regions, because it causes dark, dry, firm spots on the flavedo. This damage is a latent infection that appears after harvest, causing significant losses to producers as no symptoms are apparent at harvest time. As mandarins are an exportable fruit, chemical residues must be avoided prior to harvest. In view of this problem, zero-residue (organic-biological) products are promising targets for development. This research evaluated the *in vitro* efficacy of zero-residue fungicides on *Cladosporium ramotenellum*, a pathogen associated with "sooty blotch" in mandarins (*Citrus reticulata*). Using the poisoned food technique, the experiment was conducted under a completely randomized design (CRD) in the Plant Health Laboratory of the National University of Cañete. Twenty-two treatments (including chemical, biological, and plant extract compositions) plus one control were used, with three replicates (plates) each. The variables evaluated were: percentage of mycelial inhibition of *Cladosporium ramotenellum*, using growth rate and colony diameter indicators. The treatments T15 (Jambo – Bacterial metabolites) and T20 (Luna tranquility) were the most effective, completely inhibiting mycelial growth during the 20-day evaluation period without registering an increase in colony diameter since inoculation. T4 (Bacitab-s – *Bacillus subtilis*) showed moderate mycelial growth during the first few days, reaching an average diameter of 17.83 mm, and from day 10 onwards, it completely stopped the growth of the pathogen, ending the investigation with 72.83% inhibition. The results of this research show that, on average, chemical products achieve rapid and high control in the first few days (4–6), although with a slight reduction towards the end of the evaluation period. In contrast, biological products, despite starting with moderate efficacy, progressively increase their action around day 10, reaching more than 80% inhibition. Plant extracts offer limited but constant initial control, reaching 65% inhibition.

Key words: Zero-residue fungicide, sooty blotch, *in vitro*, poisoned food method, citrus post harvest diseases.

INTRODUCCIÓN

El mercado de la mandarina a nivel nacional e internacional presenta una demanda insatisfecha creciente. La capacidad productiva actual del Perú, así como la de otros países exportadores resulta insuficiente para cubrir volúmenes requeridos, generando una brecha entre la demanda global y la capacidad. Esta situación confiere al cultivo con un alto potencial de producción y expansión (Chávez et al., 2024, p. 111).

El Perú ha experimentado un notable auge en la producción de mandarina, desde el inicio de la campaña 2025, las exportaciones peruanas de mandarina fresca alcanzaron las 53.143 toneladas, mostrando un incremento de 81% frente a lo reportado en el mismo periodo del año anterior (Agraria.pe, 2025). Sin embargo, este cultivo al igual que otros presentan problemas fitosanitarios causados por diversos patógenos. Redagrícola (2022) menciona que hay dos especies de *Cladosporium* que activan alerta en la industria citrícola, entre ellas esta *Cladosporium ramotenellum,* capaz de causa un importante impacto económico, que se podría traducir en la pérdida de hasta el 30% de la fruta. Una detección temprana es clave para la puesta en marcha de un óptimo programa fitosanitario, basado en productos químicos y biológicos.

Cladosporium ramotenellum, identificado recientemente como causante de la "mancha de hollín" en envíos lejanos de frutas (mandarina), afecta a la cáscara y genera manchas irregulares de color verde oliváceo a negro, estos daños aparecen en destino. El tiempo y la temperatura requeridos en las cuarentenas seria la puerta de entrada para el patógeno (Murciano et. al, 2022).

Los residuos de los productos fitosanitarios son sustancias potencialmente nocivas si se encuentran por encima de los umbrales establecidos por la OMS, así como por los organismos internacionales y autoridades regulatorias de cada país. Umbral que se mide en función del Límite Máximo de Residuos (LMR) de un plaguicida (Vilardell et al., 2019). El incumplimiento de estos límites no solo representa un riesgo para la inocuidad alimentaria, sino que además imposibilita la comercialización y exportación del producto hacia mercados internacionales altamente exigentes, como la Unión Europea o Estados Unidos, donde la trazabilidad y el control de residuos constituyen requisitos estrictos para su ingreso. Una vez exportado, la fruta se analiza en destino y si se exceden los LMR los exportadores se enfrentan a reclamaciones, que pueden ir desde avisos o penalizaciones en precio o cantidad a suministrar hasta la devolución de la fruta exportada y la pérdida del cliente (Palou & Montesinos-Herrero, 2015).

Ante esta problemática y las estrictas exigencias de muchos mercados y al auge de nuevos mercados como el ecológico, cada día cobra mayor importancia el desarrollo de nuevos tratamientos direccionado al Control integrado, utilizando productos residuo cero como son biológicos, extractos vegetales y el químico siempre y cuando que cumplan las restricciones respecto los LMR (Palou & Montesinos-Herrero, 2015).

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

Cladosporium ramotenellum fue reportado por primera vez como causante de la "mancha de hollín" en clementinas postcosecha en el año 2022, en los Estados Unidos de frutas provenientes del Perú, esta especie causo pérdidas importantes en el cultivo de mandarina, provocando manchas negras superficiales secas y firmes, en la superficie de la fruta, generando una depreciación en su calidad, apariencia estética y por ende su precio, perjudicando a los productores (Hu, 2023)

Redagrícola (2022) señala que los daños ocasionados han llegado afectar hasta un 30% de pérdidas de la fruta, esto se deriva principalmente por su reducción a la calidad estética, ya que los consumidores rechazan las frutas con manchas. Siendo la mandarina exportable se debe evitar la fitotoxicidad y los residuos químicos en la fruta, por lo que utilizar productos de resido cero (químicos – biológico) es una gran opción.

El incumplimiento de estos límites no solo representa un riesgo para la inocuidad alimentaria, sino que además imposibilita la comercialización y exportación del producto hacia mercados internacionales altamente exigentes, como la Unión Europea o Estados Unidos, donde la trazabilidad y el control de residuos constituyen requisitos estrictos para su ingreso. Una vez exportado, la fruta se analiza en destino y si se exceden los LMR los exportadores se enfrentan a reclamaciones, que pueden ir desde avisos o penalizaciones en precio o cantidad a suministrar hasta la devolución de la fruta exportada y la pérdida del cliente (Palou & Montesinos-Herrero, 2015).

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Cuál es el efecto de la eficacia *in vitro* de fungicidas residuo cero sobre *Cladosporium ramotenellum* patógeno asociada a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*), Cañete?

1.2.2. Problema específico

¿Cuál será la eficacia *in vitro* de extractos vegetales y productos orgánicos residuo cero sobre el control de *Cladosporium ramotenellum* patógeno asociada a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*)?

¿Cuál será la eficacia *in vitro* de productos químicos sobre el control de *Cladosporium ramotenellum* patógeno asociada a la “mancha de hollín” en mandarina (*Citrus reticulata*)?

¿Cuál será la eficacia *in vitro* de productos biológicos residuo cero sobre el control de *Cladosporium ramotenellum* patógeno asociada a la “mancha de hollín” en mandarina (*Citrus reticulata*)?

1.3. Objetivo

1.3.1. Objetivo general

Evaluar la eficacia *in vitro* de fungicidas residuo cero sobre el control de *Cladosporium ramotenellum* patógeno asociada a la “mancha de hollín” en mandarina (*Citrus reticulata*).

1.3.2. Objetivos específicos

Evaluar la eficacia *in vitro* de extractos vegetales y productos organicos residuo cero sobre el control de *Cladosporium ramotenellum* patógeno asociada a la “mancha de hollín” en mandarina (*Citrus reticulata*).

Evaluar la eficacia *in vitro* de productos químicos sobre el control de *Cladosporium ramotenellum* patógeno asociada a la “mancha de hollín” en mandarina (*Citrus reticulata*).

Evaluar la eficacia *in vitro* de productos biológicos residuo cero sobre el control de *Cladosporium ramotenellum* patógeno asociada a la “mancha de hollín” en mandarina (*Citrus reticulata*).

1.4. Justificación

Las enfermedades fúngicas en poscosecha representan una importante limitante para la comercialización de la mandarina de exportación, debido al deterioro de su calidad estética y al rechazo del consumidor. En este contexto, *Cladosporium ramotenellum*. fue reportado en 2022 como agente causal de la “mancha de hollín” en clementinas en poscosecha, en frutos procedentes del Perú, provocando manchas negras superficiales que generan pérdidas de hasta 30 % de la producción (Hu, 2023; Redagrícola, 2022).

Considerando que la mandarina se destina a mercados altamente exigentes, donde existen estrictos límites máximos de residuos, la evaluación *in vitro* de alternativas de control residuo cero, tanto químicas como biológicas, constituye una estrategia necesaria para identificar tratamientos eficaces contra *Cladosporium ramotenellum*., contribuyendo a un manejo sostenible y a la competitividad del cultivo en el mercado internacional.

Todo eso contribuirá con información a personas relacionadas con el rubro, incluyendo estudiantes, profesionales, agricultores, etc.

1.5.Delimitación de la investigación

1.5.1. Delimitación teórica

La investigación se enmarcó en el campo de la fitopatología poscosecha y el manejo sostenible de enfermedades fúngicas en cítricos, específicamente en la evaluación de alternativas de control residuo cero. Se fundamentó en teorías relacionadas con el crecimiento y desarrollo de hongos fitopatógenos, los mecanismos de acción de extractos vegetales, productos químicos y agentes biológicos, así como su efecto inhibitorio sobre *Cladosporium ramotenellum*, patógeno asociado a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*).

Asimismo, se consideraron antecedentes científicos sobre la evaluación in vitro de tratamientos residuo cero, enfocados en la reducción del crecimiento micelial y el control de patógenos poscosecha, en concordancia con las exigencias de los mercados internacionales.

1.5.2. Delimitación temporal

El estudio se desarrolló durante el año 2024, comprendiendo desde la etapa de recolección de muestras de campo (recolección hojarasca – asperjado de fruta) y packing (superficie de área de proceso), aislamiento de muestra, plaqueo, aplicación de las dosis de los fungicidas residuo cero, evaluación del comportamiento de *Cladosporium ramotenellum* en medio envenenado.

1.5.3. Delimitación espacial

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Sanidad vegetal de la facultad de agronomía de la universidad de Cañete, región Lima – Perú.

II. MARCO TEÓRICO Y EMPERÍCO

2.1. Bases teóricas

2.1.1. Origen y distribución del cultivo de mandarina

Gonzales y Morales (2007) mencionan que, pese a la histórica de los cultivos en nuestro país, los cítricos son especies exóticas, su origen se ubica en el sudeste asiático, donde tienen una amplia área que se extiende desde la vertiente meridional del Himalaya hasta el nordeste de China y Japón. En base a los estudios genómicos realizados en los últimos años se ha determinado que dentro de la diversidad de estructuras genómicas que presentan los cítricos, solo existen 4 especies verdaderas o puras, cuyos genomas no presentan introgresiones de otras especies. Dentro de las especies encontramos los mandarinos *Citrus reticulata* L. cuyo taxón tiene origen alrededor de 3,5 millones de años en el sur de China.

Agustí et al. (2020) mencionaron que la cita más antigua que se conoce procede de China y pertenece al libro de la historia (siglo V a.c.) en este se explica como el emperador Ta-Yu incluyo entre los impuestos la entrega de dos tipos de naranjas grandes y pequeñas, lo que indica el alto valor de la mandarina.

De acuerdo con Baraona y Sancho (2000) de todas las especies de frutales tropicales y subtropicales, los cítricos son los más estudiados y los más cultivados mundialmente. Estos frutales se cultivan en casi todas las regiones del mundo en donde lo permitan las condiciones climáticas. Las áreas subtropicales actualmente producen grandes cantidades de fruta destinadas a la exportación, mientras que, en las áreas tropicales, su consumo es principalmente local.

Según Baraona y Sancho (2000) los cítricos ingresaron a América con la llegada de Cristóbal Colón y luego con los diferentes conquistadores, los cuales en el proceso lo distribuyeron por toda la región.

2.1.2. Taxonomía

De acuerdo con Gonzales y Morales (2007) explican que la familia se compone de unos 150 géneros y 900 especies, principalmente arbustos y árboles, distribuidos en regiones tropicales y templadas, particularmente abundantes en Sudamérica y Australia.

Reino: Plantae

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Subclase: *Rosidae*

Orden: *Sapindales*

Familia: *Rutaceae*

Género: *Citrus*

Especie: *Reticulata*

2.1.3. Descripción botánica de la mandarina

Según Ancillo y Medina (2015) mencionan que el cultivo de mandarino (*Citrus reticulada*) es un árbol pequeño con espinas, flores blancas y frutos de cáscara naranja. Su estructura incluye un tronco único con ramificaciones, un sistema radicular extenso, hojas que se renuevan periódicamente, flores hermafroditas y semillas protegidas por una testa y un tegmen. El crecimiento de raíces y brotes se alterna, aunque en árboles maduros puede ser casi continuo. Plagas y enfermedades acortan su vida en climas cálidos.

- **Raíz:** Posee gran cantidad de pelos radiculares y principalmente es fasciculada.
- **Tronco:** Parte principal leñosa que soporta la copa y conecta las raíces con las ramas. Su grosor y altura dependen de la edad de la planta.
- **Ramas:** Crecen a partir del tronco y sostienen las hojas, flores y frutos. Se dividen en ramas principales, secundarias y terciarias, formando la copa del árbol.
- **Hojas:** unifoliadas y de nerviación reticulada, con alas rudimentarias pequeñas.
- **Flores:** Pequeñas flores blancas o ligeramente rosadas, generalmente hermafroditas solitarias o en grupos de 3 ó 4.

- **Frutos:** El fruto en sí, que contiene la pulpa comestible dividida en gajos. Su desarrollo se produce a partir de las flores fecundadas.

2.1.4. Enfermedades de mandarina

2.1.4.1.Antracnosis de los cítricos (*Colletotrichum spp*)

Según Alarcón et al. (2012) indican que la antracnosis es una enfermedad favorecida por la lluvia y la alta humedad. Es causada por especies de hongos del género *Colletotrichum,* siendo las más frecuentes *C. gloesporioides* y *C. acutatum;* son especies que afectan a otras especies frutales que producen en las mismas condiciones climáticas que las especies cítricas. Los síntomas que caracterizan a la antracnosis son lesiones necróticas con característico de tono oscuro, las cuales afectan frutos y botones florales provocando su caída prematura.

En las hojas se observan manchas irregulares que varían ligeramente en tamaño, según la especie afectada. En caso de infecciones severas, las plantas sufren defoliaciones intensas. Es común encontrar afectaciones conjuntas de antracnosis y mancha foliar por el hongo *Alternaria*.

2.1.4.2. *Penicillium digitatum*

Según el INSST (2022) indica que esta enfermedad produce una maceración en los tejidos del fruto que da lugar a una pérdida de su consistencia y desencadena en una pudrición blanda característica de este patógeno. El signo visible del desarrollo del hongo es la presencia del micelio blanquecino sobre la superficie de la lesión que luego cambia al color verde oliváceo debido a la esporulación del patógeno.

2.1.4.3. Alternaria sp.

Colonia (2013) menciona que el hongo afecta a órganos como flores, frutos recién cuajados, frutos en crecimiento y brotes. El principal daño que ocasiona es en flores y frutos, generando la caída de estos órganos producto del ataque del patógeno, los síntomas que presentan los órganos afectados son la aparición de manchas marrones circulares, en los frutos se da a nivel de la cáscara, pero que

difícilmente comprometen la pulpa, por otro lado, la muerte de brotes dificulta el crecimiento de la planta y disminuye los puntos fruteros de la siguiente campaña.

La diseminación se da principalmente por el viento y por salpicadura de las gotas de lluvia. La presencia de humedad relativa facilita la germinación de las esporas.

2.1.4.4. La "podredumbre gris",

Según Adama (2021) explica que la podredumbre gris es generado por el hongo *Botrytis cinerea*, una vez que el patógeno se hospeda en la planta, empieza a destruir sus tejidos hasta necrosarlos y obtener los nutrientes necesarios para seguir con su ciclo biológico, y afectar frutos, flores, hojas y brotes. Generando una serie de síntomas como el color pardo-marrón que es la necrosis, en su etapa de micelio y esporas, en los órganos florales, como son los pétalos, también en los frutos ocasiona la pudrición recubriendo de capa blanca.

El patógeno es rápido, cuando la humedad relativa este alrededor de 80% y la temperatura entre los 18°C, estas son condiciones óptimas, para que se desarrolle y genere un alto número de esporas asexuales las cuales se esparcen en diversos partes de la planta logrando subsistir hasta en los residuos vegetales y en el suelo.

2.1.4.5. *Cladosporium* sp

Redagrícola (2022) informa que *Cladosporium* sp. es un hongo que vive en tejidos senescentes, comúnmente asociado a la aparición de una mancha marrón en la piel de la fruta. Se ve un polvillo blanco en la zona de inserción entre el pedúnculo y el fruto. A partir de ahí se va desarrollando la infección, la que dará lugar a una lesión. Conforme el fruto crece, esta lesión se hace más pronunciada observándose una destrucción del tejido afectado. El polvillo es en realidad las células epidermales de la cutícula que se levantan por el parasitismo interno que tiene el patógeno. Este tipo de daños hace que la fruta no llegue a ser considerada para ser exportable.

2.1.5. Definición de la “Mancha de hollín” (*Cladosporium ramotenellum)*

(Redagrícola, 2020), explica que es una enfermedad relativamente nueva, reportada en el 2022, presentándose con manchas negras superficiales, secas y firmes con esporulación gris. Las manchas negras se distribuyeron por toda la superficie de la fruta sin ningún patrón identificable. La presencia de estos daños se observó en frutas tardías como la W – Murcott, tango y Nadarcott.

Figura 1

Síntomas característicos de mancha negra causada por Cladosporium ramotenellum en frutos de mandarina (Citrus reticulata).



Nota. Lesiones negras superficiales, circulares, secas y firmes en frutas exportadas a EEUU. (Murciano et al., 2022).

2.1.5.1. Patógeno causal de la “Mancha de hollín”

Murciano et. al. (2022) describen que *Cladosporium ramotenellum* presenta un crecimiento micelial negro, o gris oliva sobre la superficie de las frutas, sin penetrar ni comprometer a la pulpa del fruto, las manchas son negras, superficiales, secas y firmes sobre la totalidad de la piel de la mandarina.

Según Procitrus (2021) este patógeno es un hongo saprofito facultativo ya que se alimenta de material vivo o muerto, por lo que se puede llegar a encontrar en la fruta, en las hojarascas y en general en el ambiente, tanto en campo como en packing. Llegando a causar hasta un 30% de perdida de la fruta.

Murcia et. al. (2022) demuestran que el inicio de infección del patógeno empieza antes de la cosecha, debido a que se aisló e identifico genéticamente a *C. ramotenellum* en frutos inmaduros (verdes) de campo.

Este patógeno requiere de heridas o áreas debilitadas en la corteza para penetrar y comenzar la infección. En frutas exportadas que pasan por una cuarentena requerida, el el tiempo y la temperatura establecidas causarían daño por frio, y es justamente este el cual sería la puerta de entrada para el patógeno. Además, este hongo puede crecer a temperaturas muy bajas, cercanas a 0˚C.

2.1.5.2. Clasificación taxonómica

De acuerdo con Bensch et al. (2015) la metodología de Cronquist (1981) clasifica taxonómica al género *Cladosporium* spp.

Reino	Fungi
Phillum	Ascomycota
Clase	Dothideomycetas
Orden	Capnodiaales
Familia	Davidiellaceae
Género	*Cladosporium*
Nombre científico	*Cladosporium ramotenellum*

2.1.5.3. Descripción morfológica

Según Bensch et al. (2012) describieron la tonalidad y su textura de la colonia como de color negro oliváceo con esporulación considerable y un margen entero ligeramente ondeado. Los conidios globosos o elipsoides a cilíndrica 0-1 septados y con un rango de tamaño de 4-10 × 2-4 μm (n = 15). Los ramoconidio 0-1 septados y de elipsoide a cilíndrico de con un rango de tamaño de 15-30 × 2-5 μm (n = 15). El ancho del conidióforo en un rango de 3-6 μm (n = 15).

Colonias: Son de color oliváceo a gris oliva debido a la abundante esporulación, que aparecen sonadas al formar zonas concéntricas, con margen en todo el borde ligeramente ondulado

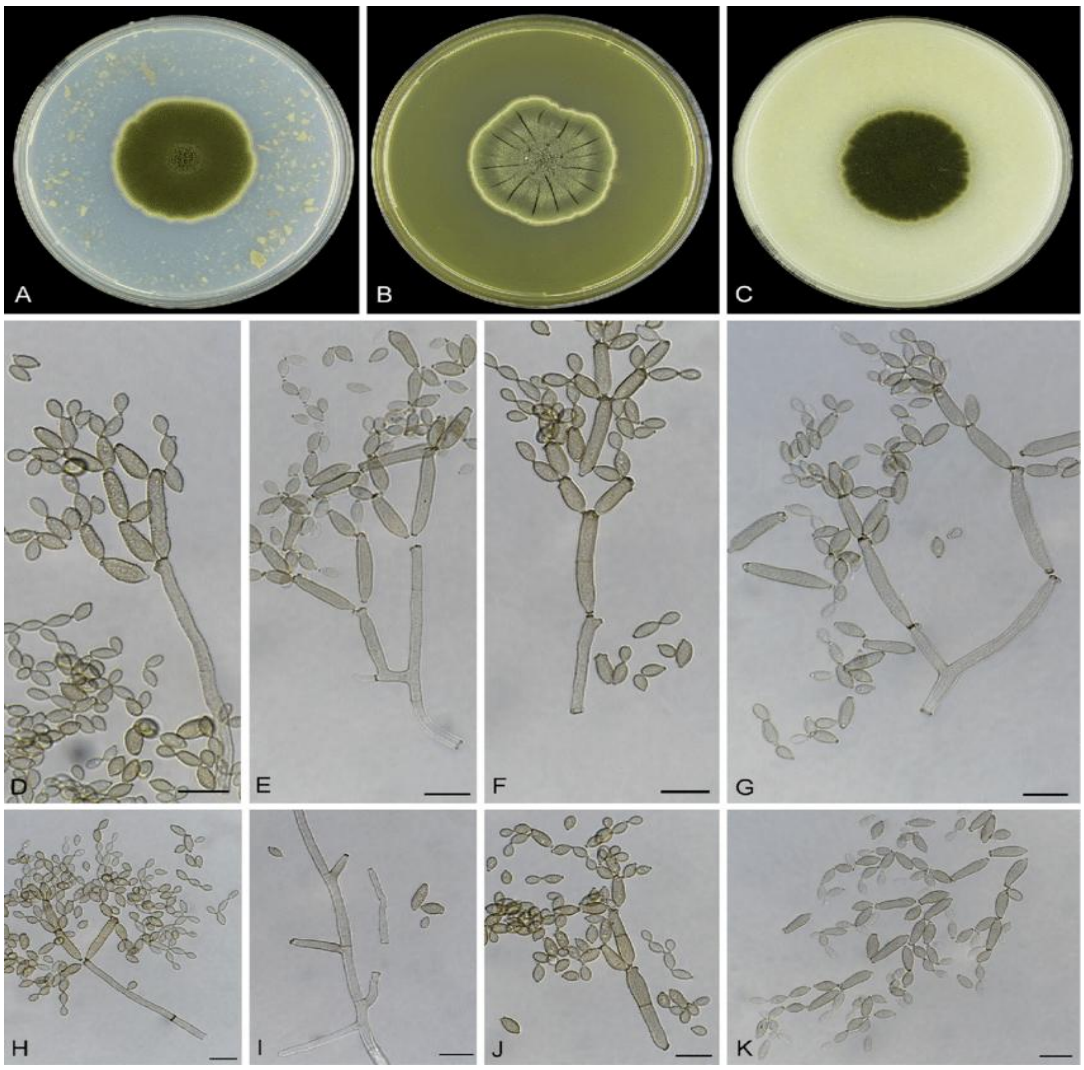
Conidios: Son numerosos, polimorfos, catenados, en cadenas ramificadas con 2–5 conidios en la parte terminal no ramificada de la cadena, rectos, a veces ligeramente curvados

Ramoconidios: Son secundarios elipsoides, subcilíndricos a cilíndricos-oblongos, (7–)13–30(–39) × 3–4(–5) µm, a veces hinchado hasta 7 µm, 0–1(–3)-septado. subhialinas a oliváceas muy pálidas.

Conidióforos: Son integradas, terminales, a veces también intercaladas, cilíndricas, no geniculados, no modulosas.

Figura 2

Morfología microscópica del crecimiento de Cladosporium ramotenellum PDA.



Nota. *Cladosporium ramotenellum*. AC. Colonias en PDA, MEA y OA. DH. Conidióforos macronematosos y cadenas conidiales. I. Conidióforos micronematosos. JK. Cadenas conidiales. Barras de escala = 10 µm. (Bench et. al., 2012).

2.1.5.4. Ciclo biológico de *Cladosporium*

De acuerdo con el INSST (2022) el ciclo biológico de la especie de *Cladosporium* inicia con la unidad básica reproductiva conocida como espora, luego esta llega a germinar, estando en un ambiente favorable, sucede su crecimiento y por último su producción de esporas, para volver a repetir el ciclo.

Esporas: El hongo *Cladosporium* se reproduce a través de esporas, que son pequeñas unidades reproductivas que se dispersan por el aire, el agua o los insectos.

Germinación: Cuando las esporas encuentran un ambiente favorable, estas producen hifas, que son filamentosas que constituyen el cuerpo del hongo.

Crecimiento: Las hifas crecen y se ramifican, formando un micelio, que es una red de hifas que se extiende sobre la superficie del sustrato.

Producción de esporas: el micelio produce nuevas esporas, que se liberan a ambiente y pueden infectar nuevas plantas.

2.1.5.5. Condiciones ambientales

Según Zeng et al. (2025) mencionan que *Cladosporium ramotenellum* presenta una marcada dependencia de ambientes con elevada humedad relativa para su desarrollo. Su crecimiento óptimo se registra dentro de un rango aproximado de 85 % a 95 % de humedad relativa, mientras que valores inferiores al 75 % limitan o detienen su crecimiento activo. No obstante, el hongo demuestra una notable capacidad de tolerancia frente a condiciones secas, ya que sus esporas pueden mantener viabilidad durante periodos de baja humedad y reactivar su germinación y desarrollo micelial cuando la humedad ambiental vuelve a superar el 85 %.

Murciano et. al. (2022) señalan que la temperatura óptima para la infección y el desarrollo micelial de *Cladosporium ramotenellum* se sitúa alrededor de 20 a 25 °C, condición considerada favorable para su crecimiento activo. No obstante, esta especie muestra tolerancia a temperaturas reducidas, pudiendo mantener una actividad limitada durante el almacenamiento en condiciones de refrigeración. Posteriormente, al exponerse a ambientes más cálidos, el hongo reactiva su crecimiento y esporulación, estableciéndose un rango térmico funcional

aproximado entre 0 °C y 25 °C, dentro del cual la máxima actividad fisiológica se observa en la zona superior del intervalo.

2.1.5.6. Proceso de infección

Según Quintero et al. (2022) mencionan que el reservorio ideal de *Cladosporium* es el suelo y la materia orgánica en descomposición (hojarasca, ramas, frutos). Si las condiciones son óptimas puede crecer en madera húmeda, combustible fósil, cosméticos, pintura, plástico, papel, ropa, etc. Puede crecer en rangos de temperatura entre de 0°C a 25°C, y en condiciones de humedad relativa por debajo del 95%.

La transmisión se produce principalmente por contaminación de heridas o por inoculación de hongos mediante picaduras de insectos, arañazos con herramientas o elementos como contaminados.

Figura 3

Ciclo de infección de Cladosporium ramotenellum.



Nota. Elaboración propia (2025).

2.1.5.7. Síntomas y signos de la enfermedad

Según Procitrus (2021) las esporas del hongo son transportadas por el viento, penetran a través de zonas de la corteza debilitadas. Estas esporas germinan en condiciones de almacenamiento con humedades altas. Los síntomas que se pueden llegar a observar en postcosecha, son manchas negras y micelio aéreo gris o negro sobre las manchas negras que se distribuyen por toda la superficie de la fruta sin patrones regulares. También se observan maceración de la cáscara y la pulpa en condiciones de almacenamiento refrigerado. Las lesiones negras en la cáscara de la fruta son superficiales, circulares, secas y firmes con esporulación gris.

Según Técnicoagricola (2013) describe como descomposición del tejido seca, firme y flexible, que afecta regularmente a partes pedunculares y estilares. En las partes donde se ha producido la infección del hongo, se presentarán síntomas como el rápido oscurecimiento y la presencia de un conjunto de micelio de tonalidad gris oliváceo. Afectando particularmente a la superficie de la fruta, ocasionando una depresión a nivel de flavedo.

2.1.6. La técnica del medio envenenado.

El medio de cultivo es una mezcla de nutrientes que, en concentraciones adecuadas físicas optimas, permiten el crecimiento de los microrganismos.

El medio más utilizado para el aislamiento de hongos contiene papa, dextrosa y agar (PDA), el cual se prepara en frascos como el Erlenmeyers de 250 ml; los frascos se esterilizan en autoclave. Una vez esterilizados, licuados, y a una temperatura aproximada de 58 °C, se adicionan los productos a evaluar en las concentraciones establecidas y antes de que se solidifique el medio, se procede a mezclar el medio de cultivo con cada producto químico, biológico o de extracto vegetal, finalmente se adicionado en placas de Petri.

2.1.7. Fungicidas para el control de *Cladosporium*

2.1.7.1.Serenade ASO (*Bacillus amyloliquefaciens*)

Según Agroactivo (2021) presenta múltiples modos de acción para atacar a los hongos fitopatógenos. Trabaja primero creando una zona de inhibición en la

hoja. Previene el ataque de patógenos destruyendo el tubo germinativo y el micelio del hongo. Estos diferentes modos de acción resultan en un efectivo control de las enfermedades, con muy poca posibilidad de que los patógenos desarrollen resistencia.

Es de contacto, preventivo y actúa por antibiosis (produce lipopeptidos como iturinas, fengicinas y surfantinas que destruyen la membrana fúngica), competencia por espacio y nutriente, y estimulan las defensas naturales de las plantas (enzimas como quitinasas y peroxidasas).

2.1.7.2.Serefiel (*Bacillus amyloliquefaciens*)

Agriculture (2022) explica que Serefiel es un fungicida con acción de protección, de contacto, de un ingrediente activo: *Bacillus amyloliquefaciens,* exhibe fuertes propiedades fungicidas a través de la producción de iturina A y surfactina, que son antagonistas del patógeno fúngico, dando como resultado una zona de exclusión alrededor del sitio de aplicación.

También exhibe propiedades bactericidas a través de la producción de varios antibióticos. Estos metabolitos antifúngicos inhiben la germinación de esporas y estimulan la defensa sistémica de la planta.

2.1.7.3.Bacitab-s (*Bacillus* subtilis)

Según Summit (2022) menciona que es un producto a base de la bacteria *Bacillus subtilis* y que presentan su acción bactericida y fungicida a través de competencia y antibiosis de bacterias fitopatógenas, logrando un control de las enfermedades.

Produce antibióticos naturales (subtilinas y surfactinas) que inhiben el crecimiento fúngico, además de competir por espacio y nutrientes en la superficie del fruto.

2.1.7.4.Barrera SL (Extracto de orégano)

De acuerdo con Agrobesser (2022) es un fungicida de origen vegetal que actúa afectando la permeabilidad de la membrana, degradación de la pared celular del hongo, causando una filtración del contenido celular e inhibiendo enzimas que

participan en la producción de energía. Todo esto conlleva a la muerte celular y del patógeno.

Contiene aceites esenciales de orégano (Carvacrl y timol) con acción antifúngica y bactericida; desestabilizando la membrana celular del hongo y bloqueando la respiración del hongo.

2.1.7.5.Timorex Gold (Extracto de *Melaleuca*)

Según Syngenta (2017) es un fungicida de amplio espectro y de origen natural (*Melaleuca alternifolia*) utilizado sobre patógenos que afectan a los frutales y hortalizas. Tiene un amplio espectro de control, y un periodo de carencia "cero" días a cosecha y solo 4 horas tiempo de re- entrada, es amigable con el medio ambiente y con los controladores biológicos y polinizadores, siendo una herramienta considerable excelente para el manejo integrado de plagas, agricultura convencional y orgánica, además no requiere tolerancias EPA.

Contiene terpenos, que son aceites de *Melaleuca alternifolia* y estos actúan por contacto, desintegrando la pared y membrana del hongo; también inhiben la germinación de esporas.

2.1.7.6. Desfan (Extracto de semilla de toronja)

Lagos (2017) explica que es un bactericida, alguicida, viricida y fungicida, esto va a depender de la dosis. Su ingrediente activo es el extracto cítrico de semillas de toronja (*Citrus máxima*) y esta formulado con glicerina orgánica como estabilizante y ácido ascórbico natural.

Es de contacto, rico en flavonoides y ácidos fenólicos, que rompen la integridad de la membrana del hongo y limitan la producción de enzimas extracelulares, dañando las membranas fúngicas.

2.1.7.7. Bestcure (Extracto de semilla de toronja)

Menciona Bioscience (2024) que Bestcure es un extracto vegetal a base de especies cítricas (*Citrus reticulata* y *Citrus auratium*) prensado en frío. Tiene una acción biosida contra un amplio espectro de fitopatógenos (bacterias y hongos), también activa las defensas naturales de las plantas. Por otro lado, tiene un efecto

antioxidante. Bestcure es muy eficiente en una amplia variedad de cultivos. Además, esta formulado de forma óptima y balanceada con aminoácidos y antioxidantes, garantizando la integridad molecular, generando una máxima actividad enzimática, por lo que asegura en última instancia una larga vida útil.

Contiene bioflavonoides que actúan como antioxidantes que alteran la permeabilidad de la pare celular fúngico, rompiendo la integridad de la membrana del hongo y limitan la producción de enzimas extracelulares.

2.1.7.8. BC -1000 (Extracto semilla de toronja)

Chermie (2024) explica que es un fungicida natural, con muy baja toxicidad para plantas, se obtiene de extracto de semilla de toronja (semillas, membranas y pulpa de la toronja). Con una concentración emulsionante de contacto, preventivo y curativo.

Contienen compuestos fenólicos que interfieren con la respiración y germinación de esporas, reduciendo la colonización del patógeno.

2.1.7.9.Biofarm (Extracto de *Larrea tridentata*)

Farmagro (2024) indica que es un biofungicida altamente concentrado; mejorado fisiológica y genéticamente, de actividad biológica antagónica sobre hongos, su modo de acción: es un extracto vegetal derivado de la “gobernadora” (*Larrea tridentata*) con acción fungicida y bactericida. Sus resinas y ácidos orgánicos inhiben la germinación de esporas y el crecimiento de hongos y bacterias.

Actúa por contacto y contiene lignanos fenólicos que inhiben enzimas y dañan el micelio.

1.1.7.10. Ixibio Metabolitos

Agrocube (2024) menciona que es una innovación en aplicación foliar que combina la potencia de los polifenoles con la adición de cobre quelatado en su formulación. Los polifenoles, compuestos antioxidantes naturales, trabajan en sinergia con el cobre para estimular la actividad de la SOD (superóxido dismutasa) en las plantas. genera una recuperación acelerada de la planta ante estrés ambiental o presencia de enfermedades.

Los metabolitos vegetales inhiben la síntesis de proteínas y enzimas en hongos alterando su crecimiento.

2.1.7.11.Kaligreen (Bicarbonato de potasio)

Agrobesser (2024) señala que es fungicida biológico de contacto y acción curativa (único en su categoría). Actúa interrumpiendo el balance del ion potasio en las células, induciendo al colapso de la pared celular de los hongos. Controla eficazmente al *Oídium* y *Botrytis* sin dejar residuos en la planta. Tiene registro biológico y certificación orgánica.

El bicarbonato de potasio eleva el pH en la superficie vegetal, creando un ambiente desfavorable para el patógeno, deshidrata el micelio y detiene la germinación de esporas.

2.1.7.12.Biko (Bicarbonato de potasio)

Montana (2024) indica que es un fertilizante foliar que contiene una gran concentración de potasio soluble, enriquecido con Azufre y Magnesio, actúa como un inductor de resistencia de las plantas. Además, tiene un efecto en la cicatrización de heridas y favorece el aumento de la turgencia celular, lo cual ayuda a controlar el estrés vegetal.

El bicarbonato de potasio eleva el pH en la superficie vegetal, creando un ambiente desfavorable para el patógeno, deshidrata el micelio y detiene la germinación de esporas.

2.1.7.13.Jambo (Metabolitos bacterianos)

Novalty (2017) explica que está compuesto por fermentos enzimático de lactobacillus las cuales actúan como metabolitos específicos. Contiene una bacteria que se ha obtenido mediante un proceso fermentativo y que es de origen biológico, las proteínas mencionadas actúan como enzimas degradables de las paredes celulares de los patógenos, por lo que este se ve afectado en su crecimiento y proliferación.

Contiene metabolitos bacterianos con propiedades enzimáticas y antibióticas, que rompen la pared celular y bloqueando la síntesis de proteínas del hongo.

2.1.7.14. Soil set (Metabolitos bacterianos)

De acuerdo a FactorAgro (2023) es una combinación de enzimas y metabolitos bacterianos específicos con aminoácidos procedentes de fermentación seleccionados para estimular el desarrollo radicular. La combinación de un sistema radicular fuerte es la base que necesita cualquier cultivo para aumentar su potencial productivo.

Contiene metabolitos bacterianos, fomenta el microbiota benéfico que compite con hongos patógenos y libera metabolitos bacterianos con propiedades enzimáticas y antibióticas.

2.1.7.15.Copper Crop (Cobre orgánico)

Según Cropsprotection (2024) indica que es un nutriente foliar liquido absorbible por las plantas, estructurado a base de moléculas orgánicas activadas originadas del metabolismo del ion Cobre (Cu) asimilable y del sulfato de cobre pentahidratado, que actúa sobre la pared celular de hongos y bacterias que están dentro de la planta, por otro lado también corrige las deficiencias de los elementos mencionados. Tiene como base, una formulación particular de sulfato de cobre pentahidratado sistémico el cual cuenta con un doble sistema para la absorción de la planta: vía radicular (acropetal) y vía foliar (basipetal), actividad que le permite llegar a aquellos órganos afectados por organismos como hongos o bacterias.

El cobre orgánico libera iones de Cu^{2+} que se unen a proteínas y enzimas del hongo, destruyendo su estructura y bloqueando la respiración celular.

2.1.7.16.Trichotap (*Trichoderma* sp)

Según Agrobayer (2022) *Trichoderma* es un fungicida biológico preventivo y biorregulador de fitopatógenos foliares en frutales y hortalizas, que prevé el ataque de los hongos. *Trichoderma* induce al crecimiento de la raíz y el área foliar en los cultivos. Coloniza e impide el ingreso de microorganismos como hongos y bacterias. Posee características de estimulantes biológicos.

Es de contacto y actúa por micoparasitismo enrollando su micelio sobre el del patógeno; además, libera enzimas (quitinasas, glucanasas) que degradan la pared celular del hongo).

2.1.7.17.TrichoVIT Plus (*Trichoderma* sp)

Agrisolver (2019) indica que es un fungicida biológico formulado a base de conidios del hongo *Trichoderma harzianum*, que actúa hiperparasitando y produciendo metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas, su acción es preventiva, al inhibir el crecimiento de fitopatógenos del suelo y del follaje mediante modelos de competencia natural, su acción es determinada por la producción de enzimas capaces de producir sustancias antibióticas que actúan en el control biológico de los fitopatógenos.

2.1.7.18. Luna tranquility (Fluopyram + pyrimethanil)

Agrobayer (2022) señala que Luna tranquility es un fungicida del grupo 7 (Fluopyram) y grupo 9 (Pyrimethanil) como modos de acción de amplio espectro. Cuenta con una única formulación con propiedades curativas, sistémicas y preventivas para el control de patógenos como *Botrytis* y *Alternaria*. Luna Tranquility además de proteger a la planta en el campo, ayuda a proteger la producción después de la cosecha, asegurando los productos más limpios y saludables (inocuo) en la cadena de comercialización.

La mezcla sistémica de fluopyram, inhibe la respiración mitocondrial del patógeno; el pyrimethanil bloquea síntesis de metionina, conjuntamente interfiriendo en la germinación y crecimiento del micelio.

2.1.7.19. Score (Difenoconazol)

TQC (2020) menciona que es un poderoso fungicida sistémico, de largo poder residual. Se usa para el control efectivo de numerosas enfermedades. Tiene amplio espectro, mayor efecto de choque y residual que el resto de Triazoles.

Inhibe la biosíntesis de ergosterol, componente esencial de la membrana del hongo, causando su colapso.

2.1.7.20. Atena (Bacillus spp)

AgroKlinge Perú (2024) describe que es un ´producto biológico y contiene 100 % de endosporas de tres especies de *Bacillus spp*., incluyendo *Bacillus subtilis*, con una acción preventiva, segura y compatible con uso integrado de plagas.

Genera competencia por nutrientes y produce compuestos antifúngicos y micotoxinas, que inhibe el crecimiento del patógeno generando posteriormente su muerte.

2.2.Antecedentes

A. Antecedentes nacionales

Cruz (2025) aisló e identifico cepas de *Trichoderma spp.* de campos comerciales de cítricos para evaluar su potencial antagonista contra tres especies de *Cladosporium* spp. en ensayos in vitro y en campo. En total obtuvo ocho aislamientos mediante la siembra de suspensión de suelo. Todos los aislamientos inhibieron el crecimiento de las tres especies de patógenos (*C. ramotenellum, C. sphaerospermum y C. tenuissimum*) en las pruebas de antagonismo de enfrentamiento en cultivo dual (53.86%, 51.7% y 56.19%) y reduciendo el tamaño de la colonia de *Cladosporium* spp. por efecto de los metabolitos volátiles de *Trichoderma* spp. en la técnica de placa invertida (28, 21.38 y 39.67 mm). En la prueba de efecto de metabolitos no volátiles, los filtrados de *Trichoderma* spp. redujeron el tamaño de colonia para C. *ramotenellum* (27.5 mm) y C. *sphaerospermum* (23 mm), pero no para C. *tenuissimum*. Estos resultados respaldan el efecto positivo de *Trichoderma* spp. de ser implementando en un Manejo Integrado de *Cladosporium spp*., sin riesgo de residualidad y menores costos.

Quiñones (2022) determino la capacidad inhibitoria de metabolitos secundarios obtenidos de cepas de *Bacillus* spp. y *Burkholderia vietnamiensis* contra el crecimiento y desarrollo de *Rhizoctonia* sp. Se determinó la capacidad inhibitoria de 19 cepas bacterianas (16 *Bacillus* spp. y 3 *Burkholderia vietnamiensis*) *in vitro* en relación al crecimiento del patógeno en los medios TSB y en medio mineral (MM). Se eligieron 5 cepas bacterianas; *B*. SM59, *B. aryabhattai* SM3 y 3 cepas de *B. vietnamiensis*. Los resultados obtenidos de las evaluaciones indican que los tratamientos tuvieron diferentes resultados según el medio utilizado, teniendo a T1 (cepa SM 59- *Bacillus subtilis*) como la que obtuvo un mayor porcentaje de inhibición contra el desarrollo de *Rhizoctonia* sp. (5,53 cm2) en el medio MM, seguidamente de T2 (cepa SM 3 – *Bacillus aryabhattai*) (11,76 cm2) en el medio TSB. Los metabolitos de las cinco cepas de bacterias mostraron significativamente ser altamente inhibitorio sobre *Rhizoctonia* sp. en medio MM.

Alvarez Romero & Mattos Calderón, (2022) determinaron la efectividad de doce tratamientos alternativos para el control de *Oidium* sp. en el cultivo del arándano. El experimento se instaló bajo un diseño de bloques completos al azar (DBCA). Los tratamientos fueron planteados en base a *Bacillus subtilis*, AP-01, *Bacillus subtilis* IAB/BS03, silicio, azufre, *Manano oligosácaridos* y bicarbonato de potasio. Se consideraron seis tratamientos en rotación de los productos mencionados, y seis tratamientos sin rotación. Las aplicaciones se realizaron semanalmente, desde la brotación hasta la prefloración. Se evaluó con una frecuencia de siete días la incidencia y severidad. Los resultados indican que los tratamientos con bicarbonato de potasio y azufre tuvieron el mejor efecto de control de la incidencia con una eficacia de 61.85 y 42.81 % respectivamente. Asimismo, los tratamientos con bicarbonato de potasio, Azufre y Azufre en rotación con Silicio presentaron el mejor efecto de control de la severidad con una eficacia de 73.96, 56.7 y 54.82 % respectivamente.

B. Antecedentes internacionales

Noelting et al. (2025) realizaron ensayos *in vitro* para evaluar la efectividad de los fungicidas Carboxin (20 % ia)+Thiram (20 % ia) 400, 500 y 600 ppm; Difenoconazole (25 % ia) 250, 500 y 700 ppm y Sulfato de cobre pentahidratado (25 %) 250, 500 y 700 ppm sobre el desarrollo micelial y la germinación de los conidios de *A. alternata*. Los resultados obtenidos indicaron que todas las dosis de los fungicidas inhibieron la germinación de los conidios de *A. alternata* entre un 80,13 y 92,54 %, no siendo fitotóxicos para las semillas ni las plántulas. Los tratamientos con Carboxin + Thiram inhibieron el desarrollo micelial entre un 69,45 y 72,30 %. De los tratamientos evaluados se seleccionaron Carboxin + Thiram (500 ppm). Difenoconazole (700 ppm) y Sulfato de cobre pentahidratado (500 ppm) por inhibir el crecimiento micelial *de A. alternata* (>39 %), inhibir la germinación de conidios de *A. alternata* (>82 %), incrementar la germinación de las semillas de amaranto (>21 %), reducir la contaminación de las semillas de amaranto por *A. alternata* (>86 %) y no ser fitotóxicos para las semillas ni las plántulas de amaranto. Los fungicidas seleccionados podrían utilizarse para reducir el inoculo presente naturalmente en las semillas de amaranto disminuyéndose así el impacto del patógeno en el cultivo.

Abbey et al. (2024) evaluaron el efecto de diferentes tratamientos con fungicidas sobre el rendimiento y desarrollo de la *Botrytis* en tejidos florales y los frutos

del arándano silvestre, bajo condiciones de campo. Este ensayo plurianual examinó cinco fungicidas diferentes (Switch®, Luna Tranquility®, Merivon® Xenium, Propulse® y Miravis® Prime), cada uno aplicado dos veces con un intervalo de 7 a 10 días. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar *con* seis repeticiones. Todos los tratamientos, excepto Switch®, redujeron la incidencia de la enfermedad en más del 78% y su severidad en más del 40%, en comparación con las parcelas de control. Luna Tranquility®, Merivon® Xenium y Propulse® redujeron la incidencia en al menos un 47 % y la severidad en un 51 % en comparación con las parcelas de control. El rendimiento de las bayas fue mayor en las parcelas tratadas con Switch®, Luna Tranquility® y Miravis® Prime, con un aumento de al menos un 19 % en comparación con las parcelas de control.

Lan et al. (2024) evaluaron la sarna negra de la papa, causada por *Rhizoctonia solani*, utilizando *Paenibacillus polymyxa* YF y *Bacillus amyloliquefaciens* HT con el objetivo de determinar la capacidad antagonista, las bacterias se inocularon en 3 puntos en placas de 6 mm utilizando cultivos bacterianos en placas. Entre ellas, en comparación con el grupo control, las cepas *P. polymyxa* YF y *B. amyloliquefaciens* HT exhibieron la mayor actividad inhibitoria contra *R. solani*, con tasas de inhibición del 61,33 % y 60,56 %, respectivamente (prueba HSD de Turquía, $p < 0,05$). Las observaciones microscópicas mostraron alteraciones morfológicas, presentando una marcada distorsión, contracción, atrofia e incluso rotura. Las hifas del grupo control mantuvieron un aspecto saludable, con una superficie abundante y lisa, un tamaño uniforme y una estructura fisiológica normal. En el grupo tratado con *B. amyloliquefaciens* HT, las hifas de *R. solani* también mostraron diferencias morfológicas significativas en comparación con el grupo control, con deformación, colapso y arrugamiento significativos alterando efectivamente la integridad estructural y funcional de la membrana celular *de R. solani*, contribuyendo a su efecto inhibidor sobre el crecimiento y la proliferación de *R. solani*. El análisis de PCR identificó genes en ambas cepas bacterianas que codifican lipopéptidos antimicrobianos, como fenB, ituC y srfAA, asociados con la síntesis de fengicina, iturina y surfactina, teniendo un importante efecto antagonista sobre *R. solani*, lo que sugiere su potencial como agente de control biológico eficaz para el control de la sarna negra de la papa.

Morán Pareja (2023) evaluó el efecto de cuatro fungicidas de sustratos en el control de hongos para la propagación asexual de cacao en condiciones de vivero. Se

aplicó un diseño completo al azar, con 5 tratamientos y 4 repeticiones. Se evaluaron variables, incluyendo altura de planta, número de hojas, incidencia de hongos, número de plantas infectadas, número de ramas por planta, longitud y peso de la raíz, porcentaje de prendimiento de plantas y relación beneficio-costo. Los resultados destacaron que el tratamiento más efectivo para desinfectar el sustrato y controlar los hongos fue el T3, que implicaba el uso de un extracto a base de cítricos al 0.5%. Este tratamiento demostró una baja incidencia de hongos (9.72%) y un promedio de solo 4 plantas infectadas. Desde una perspectiva agronómica, el T3 mostró los mejores resultados en términos de altura de planta (19.47 cm), número de hojas (5), longitud de raíz (27.65 cm) y peso de la raíz (3.61 gramos). En cuanto al número de ramas, los tratamientos T3, T2 (Sustrato + Aceite de canela 0.5%) y T4 (Sustrato + Complejo Biológico de Microorganismos) demostraron resultados similares, cada uno con dos ramas., este estudio revelo que el extracto a base de cítricos al 0.5% obtuvo el mejor resultado como fungicidas y económicamente rentable.

Valenzuela-Quintero et al. (2023) evaluaron *in vitro* el efecto del aceite esencial y extracto acuoso de la especie vegetal *Lippia palmeri W*. La actividad antifúngica se realizó mediante el método de difusión en agar sobre los hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum* y *Thanatephorus sp*. Se determinó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de las dosis de aceite esencial 0, 100, 150, 200, 250 y 300 µL/mL y del extracto acuoso liofilizado 0, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 y 0.30 g, el cual fue evaluado mediante un análisis de varianza (ANOVA) y posterior comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$). extracto acuoso del orégano sobre *Fusarium oxysporum*, y *Thanatephorus* sp las dosis con mejor resultado de 0.25 g y 0.30 g con una inhibición entre el 58 % y 90 % las dosis más bajas que fueron de 0.10 a 0.15 g inhibieron entre el 10 % y 38 % el crecimiento micelial. Los aceites esenciales de orégano como el carvacrol, la dosis de 100 µL/mL fue la que tuvo menor efecto de inhibición entre 90 y 93 %, pero a medida que se iba incrementado, este tenía un control hasta llegar a un 99 y 100 % sobre *Thanatephorus* sp. Con el aceite esencial de eucalipto tuvo una inhibición inducida de entre el 84 y 100 % para *F. oxysporum* y *T. cucumeris*. Los resultados evidenciaron que *F. oxysporum* y *Thanatephorus* sp. fueron inhibidos in vitro por el aceite esencial y extracto acuoso del orégano *L. palmeri* W., la velocidad de crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* y *Thanatephorus* sp. se redujo acorde al aumento de las concentraciones utilizadas.

Flores et al. (2023) evaluaron el potencial de control de las bacterias pertenecientes del género *Bacillus* sp, sobre hongos aislados, asociados a la "pudrición escamosa", enfermedad con importancia económica, las diez bacterias seleccionadas fueron analizadas por medio de ensayos *in vitro,* con el objetivo de determinar el porcentaje de antagonismo que presenta cada una de ellas sobre el agente *Neoscytalidium hyalium*. Los aislamientos bacterianos G11, G21 y G31 se identificaron como *Bacillus amyloliquefaciens* y todos los hongos pertenecientes al género *Neoscytalidium* sp. fueron identificados como *N. hyalinum*. Las evaluaciones mostraron que todas las especies reducen significativamente ($p \leq 0.05$) el radio o área de infección del patógeno en los tratamientos evaluados de manera *in vitro,* sobresaliendo los tratamientos G11, G21 y G31. En los tratamientos que fueron evaluados *in vivo* de inducción de resistencia los asilamientos G11, G21 y G31 redujeron significativamente ($p \leq 0.05$) el área de infección del patógeno *Neoscytalidium hyalinu*m causantes de las heridas en el cultivo de Nopal.

Baard *et al.* (2023) evaluaron el potencial de biocontrol de aislados bacterianos vegetales contra *Fusarium oxysporum, Fusarium proliferatum, Fusarium culmorum y Fusarium verticillioides.* El aislamiento, la identificación, la caracterización y los ensayos de biocontrol antagónico in vitro de estos aislados contra especies de Fusarium se llevaron a cabo siguiendo protocolos estándar. Los endófitos bacterianos se aislaron de hojas de Glycine max. L (B1), semillas de *Brassica napus*. L (B2), semillas de *Vigna unguiculata* (B3) y semillas de *Glycine max.* L (B4). Los aislados bacterianos se identificaron mediante secuenciación por PCR del ARNr 16S. Un análisis filogenético muestra que los aislados bacterianos están estrechamente relacionados con *Bacillus subtilis* (B1) y *Bacillus tequilensis* (B2-B4), con una identidad superior al 98%. Todos los aislados bacterianos produjeron una cantidad significativa ($p < 0,05$) de ácido indolacético (AIA), sideróforos y actividad proteasa. Los ensayos antagónicos in vitro de estos aislados muestran una inhibición significativa ($p < 0,05$) del crecimiento del micelio fúngico en el siguiente orden: *F. proliferatum, F. culmorum, F. verticillioides y F. oxysporum,* en comparación con el control. Los resultados sugieren que estos aislados bacterianos son buenos candidatos para el biocontrol contra las especies de Fusarium seleccionadas.

Valenzuela et al. (2023) evaluaron *in vitro* el efecto del extracto acuoso y del aceite esencial de la especie vegetal del cultivo de orégano (*Lippia palmeri* W), la

colecta se realizó cuando el cultivo mostraba presencia de flores (floración). Se realizaron 2 tipos de bioensayos, uno para el extracto acuoso y otro es el aceite esencial, se evaluó utilizando el método de difusión en agar para la actividad antifúngica de los patógenos como *Thanatephorus sp* y *Fusarium oxysporu*m. El porcentaje de inhibición del crecimiento micelial del aceite esencial se analizaron en las dosis 0, 100, 150, 200, 250 y 300 µL/ml y del extracto acuoso liofilizado 0, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 y 0.30 g, los cuales fueron evaluados utilizando el método de análisis de varianza (ANOVA) para posteriormente comprobar las medias de Tukey ($p \leq 0.05$). El carvacrol de *Lippia palmeri* y el aceite esencial mostraron inhibir al 100 % la incidencia y el crecimiento de *Fusarium oxysporum* al contrario de *Thanatephorus* sp. que mostró entre 90 y 100 %. En el extracto acuoso se llegó a inhibir dependiendo de la dosis utilizada a *Thenatephorus sp*. fue de 10 a 100 % y para *F. oxysporum* mostro una inhibición de un rango del 20 y 100 %.

Sá et al. (2022) en esta investigación tuvieron como objetivo evaluar la acción antagonista *in vitro* de bacterias del género *Bacillus* y el hongo *Trichoderma sp*. en el control de *Fusarium sp.,* responsable del daño a plantas de *Vigna unguiculata* (L.) Walp (caupí). El ensayo se realizó mediante la técnica de apareamiento de cultivos. El patógeno *Fusarium* sp. se obtuvo aislando plantas de *V. unguiculata* con síntomas de la enfermedad. Los antagonistas utilizados fueron: *Bacillus subtilis* (LCB 30), *B. subtilis* (LCB 45), *Bacillus sp*. (BMH), *Bacillus sp*. (INV) y *Trichoderma sp*. Las evaluaciones de crecimiento micelial se realizaron cuando toda la superficie del medio de cultivo PDA (agar papa dextrosa) estaba colonizada por *Fusarium sp*. en el tratamiento control (patógeno cultivado en ausencia del antagonista). Para los análisis se utilizó un diseño completamente aleatorizado con 5 réplicas. Con base en los resultados obtenidos, se puede inferir que *Bacillus subtilis* (LCB 45) y *Trichoderma sp*. tienen potencial como antagonistas frente a *Fusarium* sp., siendo el aislado de *B. subtilis* (LCB 30) responsable de inhibir el 25,0% del crecimiento micelial, y los tratamientos con *B. subtilis* (LCB 30), *Bacillus* sp. (BMH), *Bacillus* sp. (INV) y *Trichoderma* sp. inhibiendo el 59,4%, 46,5%, 46,4% y 37,0% del crecimiento del diámetro de colonias del agente causal de la fusariosis en plantas de *V. unguiculata*, respectivamente.

Tarazona Mateus, S. y Vacca Pinilla, A. (2022) evaluaron la aplicación foliar de extractos vegetales y biológicos para el control de enfermedades en soja, con el objetivo de determinar el efecto de extractos vegetales como *Melaleuca alternifolia, Indigofera*

tinctoria, Swinglea glutinosa y Bacillus subtilis junto con un testigo comercial conocido como AMISTAR TOP, para el control de enfermedades en Soja Panorama 29 (Glycinemax L.), en Villavicencio, Meta. El diseño experimental utilizado fue de Bloques Completos al Azar (BCA) con 6 tratamientos y 4 replicaciones, para un total de 24 unidades experimentales. El extracto de *Melaleuca alternifolia* es un producto comercial que se encuentra con facilidad (STK, 2021), los extractos de *Indigofera Indica* y *Swinglea glutinosa* se prepararon utilizando 300 gramos de hojas de la planta en su estado vegetativo con 300 cc de agua, luego se licuaron y se llevó esta mezcla a un litro de agua. En el caso de *Bacillus subtilus* se utilizó el producto comercial Subtikind EC cepa B01 1 x 10 8 ufc/cc. Para el caso del producto comercial Amistar Top como control la dosis fue de 0.6 L por hectárea. Se identificó que la aplicación de *Melaleuca alternifolia* obtuvo el mejor resultado, en comparación al resto de las aplicaciones, esto debido a sus metabolitos secundario, los cuales tienen efectos fungicidas, tienen componentes naturales que ofrecen una actividad curativa, preventiva y antiesporulante, que inhiben el crecimiento de enfermedades fúngicas presentando un caso especial en donde se evidencia una alta incidencia de la Cercospora, pero la severidad de esta en la planta resultó ser la más baja de todas.

Parrales et al. (2022) evaluaron la efectividad de los fungicidas difenoconazol y estrobirulina solos o en mezclas sobre la severidad e incidencia de enfermedades, así como su efecto sobre el rendimiento y el desempeño agronómico. Se establecieron seis concentraciones de fungicidas y un control absoluto en cuatro réplicas. La siembra se llevó a cabo con semillas de soja Soyica P-34 en parcelas de 20 m2. Se aplicó un diseño de bloques completos al azar. Se utilizó la prueba de Tukey para evaluar las medias al 5% de significancia. Se evaluaron: la altura de planta, número de granos por vaina, número de vainas por planta rendimiento por hectárea, incidencia y severidad de la enfermedad. Los resultados que presento la investigación demostraron que las aplicaciones utilizando solo de fungicidas y en mezclas a dosis recomendadas obtuvieron un impacto en el control de la severidad de la roya en el cultivo de la soja *Phakopsora pachyrhizi* en las condiciones bajo las cuales se condujo el ensayo y en los rendimientos de los cultivos. El tratamiento con mejores resultados fue estrobirulinas (400 cc/ha) + difenoconazol (400 cc/ha), aplicado entro los 50, 65 y 75 días después de la siembra, el cual mostró una incidencia del 84,96%, pero con una gravedad de 19,33%. 85 días después de la siembra, con un rendimiento de soja de 4257,33 kg/ha.

Astapchuk et al. (2021) evaluaron la eficacia de fungicidas contra patógenos de la podredumbre del corazón del manzano de los géneros *Fusarium Link*, *Alternaria Nees* y *Botrytis* (Fr.) en condiciones de laboratorio, como resultado de los estudios realizados, se observaron reacciones específicas de especie de sensibilidad relativa a fungicidas químicos de cepas de los géneros *Fusarium* Link, *Alternaria* Nees y *Botrytis* (Fr.) *in vitro*. El fungicida Luna Tranquility, SC mostró una actividad antifúngica muy alta contra *F. avenacium*, *F. oxysporum* y *A. alternata* (100 %) y una actividad antifúngica baja contra *F. solani* y *B. cinerea* (73-74 %), El fungicida Cidely-Top, DC inhibió el crecimiento de los hongos *F. sporotrichioides*, *F. semitectum* y *A. alternata* en un 95-96 %, su efectividad biológica mínima fue del 83 % en la cepa *F. oxysporum*. En conclusión, frente al hongo *B. cinerea*, la efectividad de todos los productos fue igual o inferior al promedio, lo que puede indicar la presencia de resistencia en la cepa estudiada.

Sempere-Ferré et al. (2021) evaluaron la capacidad antifúngica *in vitro* de los compuestos botánicos eugenol, carvacrol, timol y cinamaldehído, y la sinergia o antagonismo de sus mezclas, contra *Botryotinia fuckeliana* y *Rhizoctonia solani*. Se realizaron diferentes bioensayos a dosis de 300, 200, 150 y 100 µg/mL utilizando compuestos comerciales puros y su combinación en medio de cultivo agar patata dextrosa. Se calcularon la tasa de crecimiento y los parámetros de inhibición del crecimiento del micelio. Los compuestos fenólicos y su combinación inhibieron el desarrollo de las especies a las diferentes concentraciones, mostrándose actividad fungicida en casi todas las condiciones probadas. El carvacrol y timol mostraron actividad fungicida en todas las concentraciones con tasas de crecimiento cero y un MGI de 100%, excepto a 100 y 150 µg/mL, en las que no se erradicó el hongo y se registró actividad fungistática ralentizando el crecimiento en comparación con el control, con un MGI de 87,09 y 57,52%, respectivamente.

Cumbal (2021) evaluó tres productos de origen biológica para el controlar el oídio (*Sphaerotheca pannosa*) en las rosas (*Rosa* sp.) de la variedad Gotcha. El trabajo de investigación se llevó por medio de un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) con arreglo factorial A x B + 1, con 10 tratamientos y 3 repeticiones, obteniendo un total de 30 tratamientos; los materiales biológicos evaluados fueron: *Trichoderma* spp., *Bacillus* spp., *Melaleuca alternifolia*, utilizando 3 dosis para cada una, frente al control (sin aplicación), con el objetivo de evaluar la incidencia y/o

severidad desde los 0 días (antes de la aplicación) hasta los 7,14, 21, 28 días después de ser aplicados; la resistencia se analizó en las semanas siguientes a la última aplicación. Los datos fueron evaluados por medio del análisis de la varianza y la comparación de tratamientos se llevó mediante la prueba de Tukey al 5 %. En el control de oídio (*Sphaerotheca pannosa*) en la variedad Gotcha, los tratamientos de *Trichoderma* spp. en concentración de 6 cc/l y *Bacillus* spp. en 3 cc/l, fueron los que mostraron bajos índices de incidencia de la enfermedad, con una eficacia de 15 días después de haber sido aplicada, diferenciándose entre los demás tratamientos.

Gonzales et al. (2020) evaluaron la efectividad de antagonismo de *Trichoderma* sp. sobre diferentes hongos fitopatógenos presentes en el cultivo de maíz (*Zea mays*) (*Roya, Alternaria sp., Cladiosporum sp.* y *Verticilium sp*.) El presente estudio incluyó trabajo de campo en un cultivo de maíz y una segunda etapa en el laboratorio de microbiología la Universidad de Cundinamarca. Se calculó una incidencia y severidad más alta causada por la roya (incidencia: 100 %; severidad: 100 %), por lo que en este cultivo se destacó como el agente causal que se presentó en todas las plantas evaluadas. Se valoró la efectividad del micoparásito de *Trichoderma* sp. frente a los hongos fitopatógenos aislados de las plantas de maíz, a través de pruebas de antagonismo entre el agente micoparásito y el agente fitopatógeno obteniendo un mayor antagonismo del micoparásito frente a *Verticillium* y los demás agentes en un 49%, presentando antagonismo por competencia y antibiosis.

Badaracco et al. (2020) evaluaron la inhibición micelial con metabolitos de seis productos de procedencia vegetal, genisteína, dos chalconas, daidzeína vainillina e iso-vainillina, en el crecimiento y desarrollo *in vitro* de hongos como son *Cladosporium*, *Alternaria* sp, *Fusarium* (*F. graminearum, F. oxysporum. F. subglutinans, F. proliferatum*,), *Phomopsis longicolla*, y *Rhizopus stolonifer*, que afectan a cultivos de importancia alimentaria. Se analizó la Concentración Fungicida Mínima (CFM) y la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de cada material utilizado por medio del método de micro dilución en caldo. Las evaluaciones mostraron que genisteína, daidzeína, iso-vainillina y CH1 no tiene una acción inhibitoria en dosis por debajo de 250 mL-1. CH2 se demostró capacidad de inhibición en 4 tratamientos pertenecientes a tres géneros con diferentes dosis, también mostro actividad fungicida hacia dos de los mismos. La vainillina tubo buenos resultados al eliminar e inhibir eficazmente a los nueve aislamientos, incluidos en los cinco géneros fúngicos aplicados con dosis por

debajo de los 250 mL-1. Se llegó a la conclusión que los metabolitos de procedencia vegetal como la vainillina y CH2 demostraron tener potencial antifúngico en diferente dosis y especificidad sobre los aislamientos

Marín et al. (2019) evaluaron la eficacia de cepas nativas de *Trichoderma* y extracto botánico de *Larrea tridentata* sobre el control biológico de la enfermedad de la roya tardía de la hoja (RTH). Se analizaron 4 tratamientos; siendo T1) *Trichoderma* sp. cepa Clombta; T2) *Trichoderma sp*. cepa *Chlorolota*; T3) Co-aplicación de ambas cepas de *Trichoderma* (*Clombta* + *Chlorolota*) y T4) testigo, para ello se realizó la aplicación de productos biológicos tales como: extracto botánico de *Larrea tridentata* (CleanCrop) y *Bacillus subtilis* (Fungizard). La coaplicación de dos cepas nativas de *Trichoderma* (*Clombta* y *Chlorolota*) bajo la severidad de la roya tardía que afecta a la hoja RTH al mismo nivel que la aplicación de 2 productos biológicos comerciales (Testigo: Fungizard = *B. subtilis* y Clean Crop = Extracto botánico de *L. tridentata*). *Trichoderma sp. Chlorolota* y su coaplicación con *Trichoderma* sp. Clombta pudo reducir el índice de gravedad de RTH al mismo nivel que el Control. La aplicación conjunta de las dos cepas nativas de *Trichoderma* y el control logró significativamente el mismo y el ABCPC más bajo de RTH en R. *idaeus*.

2.3. Definición de términos básicos

Aislar: En fitopatología se refiere a la técnica de separar un organismo específico mediante partes propagativas o segmentos pequeños de un micelio existentes fuera o dentro del tejido del hospedante y llevarlo a un medio de cultivo controlado para estudiarlo.

Colonia: Es un conjunto visible de hifas, las cuales forman una colonia.

Conidio: Son esporas de origen asexual, las cuales proceden del conidióforo, ya que es allí donde se crean.

Conidióforo: Es una estructura especializada en los hongos fitopatógenos que produce conidio.

Crecimiento micelial: Es la expansión y desarrollo del micelio (estructuras filamentosas).

Cuerpo vegetativo: Son las estructuras o partes del hongo que se desarrolla y coloniza a órganos de la planta (tejido vegetal).

Dinámica poblacional: Es la evaluación del cambio de la población a lo largo del tiempo respecto a la aplicación del fungicida.

Eficacia: Se determina con la capacidad de un producto fitosanitario sobre un hongo.

Eficacia *in vitro:* Es la capacidad de que un producto obtenga el efecto deseado, en un entorno controlado de laboratorio.

Espora: Es la unidad que se utilizara para la propagación y se puede relacionar como una semilla excepto que esta no tiene un embrión, y se produce de forma asexual o sexual.

Fitopatógeno: Son microorganismos capaces de producir enfermedades en las plantas.

Fungicida: Es un producto químico utilizado para el control de hongos fitopatógenos, los fungicidas interrumpen el crecimiento y desarrollo del hongo.

Fungicida residuo cero: Es un producto, que en lo particular se caracteriza por no dejar residuos detectables en los alimentos y medio ambiente.

Hifa: Es la unidad básica de cualquier estructura de los hongos y algunos pseudohongo cuyo conjunto se le conoce como micelio.

Inóculo: Cualquier estructura del hongo (esporas, micelio, conidios, etc.) que se utiliza para infectar o ser llevado a un medio cultivo para estudiarlo o a un hospedero susceptible.

In vitro: Son experimentos llevado a cabo en medios controlado dentro de un laboratorio.

Mancha de *hollín*: En una enfermedad con síntomas de manchas negras en hojas y tallo, no daña directamente, pero puede bloquear la luz solar.

Medio de cultivo: Es un sustrato compuesto por PDA, es equilibrado y se utiliza en el laboratorio para incubar microorganismo.

Medio de cultivo envenenado: Es el medio compuesto por PDA adicionado fungicida que pretende inhibir el crecimiento del patógeno en estudio.

Micelio: Conjunto fundamental de red de hifas, que constituyen el cuerpo (talo) de un hongo, estas se ramifican y entrelazan para llegar a formar una estructura en el sustrato donde crecerá el hongo.

Morfología: Es el estudio de la formación y los caracteres externa de un organismo, semejanzas y diferencias que pueden existir en una u otra especie.

Patogenicidad: Capacidad que tiene un organismo para causar síntomas de una enfermedad. La incidencia, grado o medida de patogenicidad en que se presente se llama virulencia

Patógeno: Es todo organismo que tenga la capacidad de causar enfermedad en otro organismo.

Pigmentación: Presencia de color en el cuerpo fúngico del hongo, ya sea el micelio, las esporas entre otros.

Residuo cero: Un manejo de plagas enfocado en minimizar o eliminar por completo residuos de químicos en los alimentos agua, suelo y aire.

UFC del patógeno: Son las unidades formadoras de colonia, se utiliza para cuantificar la cantidad de microrganismo viables en la muestra.

Setas: Son cuerpos fructíferos de los hongos, la misma que se encargan de producir y dispersar esporas.

Spp: Se utiliza para indicar a un grupo de especies dentro de un mismo género.

Sp: Se refiere a una especie dentro de un género.

III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1. Hipótesis

3.1.1. Hipótesis general

Existirá eficacia *in vitro* de fungicidas residuo cero sobre el control de *Cladosporium ramotenellum* patógeno asociada a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*).

3.1.2. Hipótesis especifica.

Existira eficacia *in vitro* de extractos vegetales y productos orgánicos residuo cero sobre el control de *Cladosporium ramotenellum* patógeno asociada a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*).

Existira eficacia *in vitro* de productos químicos sobre el control de *Cladosporium ramotenellum* patógeno asociada a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*).

Existira eficacia *in vitro* de productos biológicos residuo cero sobre el control de *Cladosporium ramotenellum* patógeno asociada a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*).

3.2. Definición conceptual de variables

3.2.1. Variable independiente

VI: Los 22 fungicidas son el eje principal de esta investigación y están compuestas por:

La eficacia de los fungicidas químicos, biológicos, extractos vegetales y productos orgánicos, fue evaluada mediante el método del alimento o medio envenenado. Los fungicidas residuo cero constituyen la variable independiente de la presente investigación y representan el eje central del estudio. Estos productos comprenden fungicidas de origen químico, biológico y extractos vegetales, caracterizados por su baja persistencia y rápida degradación, lo que permite su uso en sistemas de producción orientados a mercados con estrictos límites máximos de residuos.

3.2.2. Variable dependiente

VD1: Control de *Cladosporium ramotenellum* por fungicidas de extractos vegetales y productos orgánicos.

En esta variable se evaluó la capacidad de inhibición micelial de los extractos vegetales y productos orgánicos sobre la tasa de crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum*. La inhibición del crecimiento micelial se asoció a la presencia de metabolitos secundarios de origen vegetal, los cuales alteran la permeabilidad de la membrana celular y afectan procesos metabólicos esenciales del hongo.

VD2: Control de *Cladosporium ramotenellum* por fungicidas químicos

En esta variable se evaluó la capacidad de inhibición micelial de los fungicidas químicos sobre la tasa de crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum*. La respuesta del patógeno permitió determinar la capacidad de estos productos para reducir el desarrollo fúngico sin generar residuos persistentes, constituyéndose en una alternativa viable para el manejo de enfermedades poscosecha.

VD3: Control de *Cladosporium ramotenellum* por fungicidas biológicos

En esta variable se evaluó la capacidad de inhibición micelial de los fungicidas biológicos sobre el crecimiento de Cladosporium ramotenellum. La reducción del desarrollo del patógeno se relacionó con la acción de microorganismos antagonistas y sus metabolitos, los cuales contribuyen a limitar el crecimiento del hongo y a promover un manejo sostenible de la enfermedad.

3.3.Operacionalización de variables

La operacionalización de variables permitió sintetizar la información de nuestra investigación en tablas, de tal manera que queden organizados y detallados de manera específica de cómo se midieron las variables de estudio.

Tabla 1 *Operacionalización de variables*

VARIABLES	DIMENSIÓN	INDICADORES	ÍNDICES
Variable Independiente Evaluación *in vitro* de 22 fungicidas.	Fungicidas (químico, biológico, botánicos y orgánico)	Dosis	T0: Testigo T1, T2…, T22.
Variables Dependientes Se evaluó el porcentaje de inhibición micelial de *C. ramotenellum* en presencia de los extractos vegetales.	Extractos vegetales y productos biológicos residuo cero.	Diámetro de las colonias. Tasa de crecimiento / tiempo.	mm (milímetros) mm/días
Se evaluó el porcentaje de inhibición micelial de *C. ramotenellum* en presencia de los productos químicos.	Productos químicos	Diámetro de las colonias. Tasa de crecimiento / tiempo.	mm (milímetros) mm/días
Se evaluó el porcentaje de inhibición micelial de *C. ramotenellum* en presencia de los productos biológicos	Productos biológicos residuo cero	Diámetro de las colonias. Tasa de crecimiento / tiempo.	mm (milímetros) mm/días

Nota: Fuente Elaboración propia (2024)

IV. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1.Tipo de investigación

Según Ivaldi (2022), en cuanto al alcance de sus objetivos es experimental puro, porque se manipuló la variable independiente (tratamientos fungicidas) para medir su efecto en las variables dependientes: control de *Cladosporium ramotenellum* y tiene un enfoque aplicado, ya que se evaluó el control de *Cladosporium ramotenellum*, utilizando productos de residuo cero, con el objetivo de determinar la capacidad inhibitoria sobre el crecimiento micelial del patógeno.

Es de tipo cuantitativo ya que las variables de estudio (eficacia de fungicidas) se evaluaron y midieron en unidades del sistema internacional de medidas, para convertirlo en porcentaje de inhibición del crecimiento micelial.

4.2.Diseño de investigación

El diseño que se utilizó es un Diseño Completamente al Azar (DCA), con 22 tratamientos y 1 testigo, con tres repeticiones por tratamiento, los cuales fueron:

Tabla 2 *Identificación de tratamientos según su categoría.*

Trat	Nombre C.	Ingrediente Activo	TIPO	Dosis
T1	Serenade ASO	Bacillus amyloliquefaciens	Biológico	1,0 L/200 L
T2	Serifel	Bacillus amyloliquefaciens	Biológico	0,25 kg/200 L
T3	Serifel	Bacillus amyloliquefaciens	Biológico	0,2 kg/200 L
T4	Bacitab-s	Bacillus subtilis	Biológico	0,2 kg/200
T5	Barrera SL	Extracto de orégano	E. Vegetales	0,8 L/200 L
T6	Timorex Gold	Extracto de Melaleuca	E. Vegetales	0,8 L/200 L
T7	Desfan	Extracto de semilla de toronja	E. Vegetales	0,3 L/200 L
T8	Bestcure	Extracto de semilla de toronja	E. Vegetales	0,5 L/200 L
T9	BC-1000	Extracto de semilla de toronja	E. Vegetales	0,5 L/200 L
T10	Biofarm	Extracto de Larrea	E. Vegetales	0,5 L/200 L
T11	Ixibio	Metabolitos	E. Vegetales	0,3 L/200 L T
T12	Ixibio	Metabolitos	E. Vegetales	0,4 L/200 L T
T13	Kaligreen	Bicarbonato de potasio	Organico	0,7 kg/200 L T
T14	Biko	Bicarbonato de potasio	Organico	0,8 kg/200 L T
T15	Jambo	Metabolitos bacterianos	Biologico	0,5 L/200 L T

T16	Soil Set	Metabolitos bacterianos	Biologico	0,8 L/200 L T
T17	Copper Crop	Cober organico	Organico	0,20 L/200 L T
T18	Trichotab	Trichoderma spp	Biologico	0,25 kg/200 L T
T19	TrichoVIT Plus	Trichoderma spp	Biologico	0,10 kg/200 L T
T20	Luna Tranquilyti	Fluopyram + pyrimethanil	Quimico	0,12 L/200 L T
T21	Score	Difenoconazol (25% p/v)	Quimico	0,15 L/200 L T
T22	Atena	Bacillus spp	Biologico	0,5 L/200 L T

Nota: Elaboración propia (2024).

$$Yij= \mu + Tj + Eij$$

Donde:

Yij = Es el valor observado en el i-ésimo tratamiento y la j-ésima repetición.

μ = Es el efecto de la media general

τj = Es el efecto del i-ésimo tratamiento.

εij = Es el efecto del error experimental en el i-ésimo tratamiento y la j-ésima repetición.

Figura 4

Aleatorización de tratamientos

T4	T2	T8	T21	T19	T16	T18	T9	T1
T22	T5	T11	T6	T3	T10	T20	T12	T16
T12	T10	T15	T0	T13	T8	T5	T14	T6
T2	T18	T4	T20	T17	T1	T11	T21	T19
T13	T16	T7	T14	T9	T22	T18	T0	T15
T6	T3	T0	T22	T5	T10	T13	T7	T4
T9	T1	T21	T8	T12	T2	T17	T14	T3
T7	T11	T17	T15	T19	T20			

Nota: Elaboración propia. (2024).

4.3. Método de la investigación

La investigación es de tipo explicativa, ya que analiza el efecto de los fungicidas residuo cero (variable independiente) sobre el desarrollo in vitro del patógeno *Cladosporium cladosporioides* (variable dependiente), es decir se estableció la relación causa-efecto, mediante la utilización del análisis de varianza en un diseño experimental.

4.4.Población y muestra.

4.4.1. Población

Estuvo conformada por todas las muestras fúngicas aisladas de *Cladosporium spp*. presentes en frutos y hojarascas de mandarina ubicada en el Fundo Don Fermín y superficies ambientales en planta de empaque (packing) de Safresco, ambos lugares ubicados en Chincha. Se obtuvo 27 muestras, de lo cual 20 procedentes de campo (mediante asperjado de frutos en árbol y recolección de hojarasca) y 7 obtenidas en packing (mediante asperjados en la línea de procesamiento y plaqueo ambiental).

4.4.2. Muestra

La muestra se obtuvo se de los aislamientos fúngicos. Las cuales fueron identificados a nivel de género, con el apoyo del laboratorio Foliumlab E.I.R.L. (Ica) y a nivel de especie por la empresa Umbrella Genomics. Finalmente, se seleccionó el aislado más representativo para el desarrollo del estudio.

4.5. Lugar de estudio

El presente trabajo de investigación se ejecutó en el laboratorio de Sanidad Vegetal de la Escuela profesional de agronomía de la Universidad Nacional de Cañete, geográficamente y políticamente tuvieron las siguientes características.

4.5.1. Ubicación geográfica del ensayo

Longitud= 76°42´5.985”

Latitud= 13°0´59.142”

Altitud= 26 m.s.n.m.

4.5.2. Ubicación política del ensayo

Departamento: Lima

Provincia: Cañete

Distrito: San Luis

Dirección: Pan. Sur- Km 139 Mz A Lt. 1 fundo Don Luis.

4.6.Procedimiento de la investigación

La conducción del presente trabajo de investigación, se inició con la gestión del proyecto, la cual pasó por una serie de etapas y concluyó con la gestión de los resultados.

4.6.1. Colecta de muestras de *Cladosporium*:

Se recolectaron muestras hojarasca y de agua provenientes de asperjado de frutos de mandarina de la variedad W-Murcott, colectados del Fundo Don Fermín, ubicado en el distrito de El Carmen, en Chincha. En el packing de (Fruchincha), en donde se colectaron mediante asperjados, muestras de la línea de procesamiento de frutas.

La recolección de muestras de hojarasca en campo se realizó de manera aleatoria en 10 árboles al azar, en donde se recogieron hojas caídas de cada planta (las cuales no estuvieron muy secas ni verdes) y se codifico según datos de la muestra recogida.

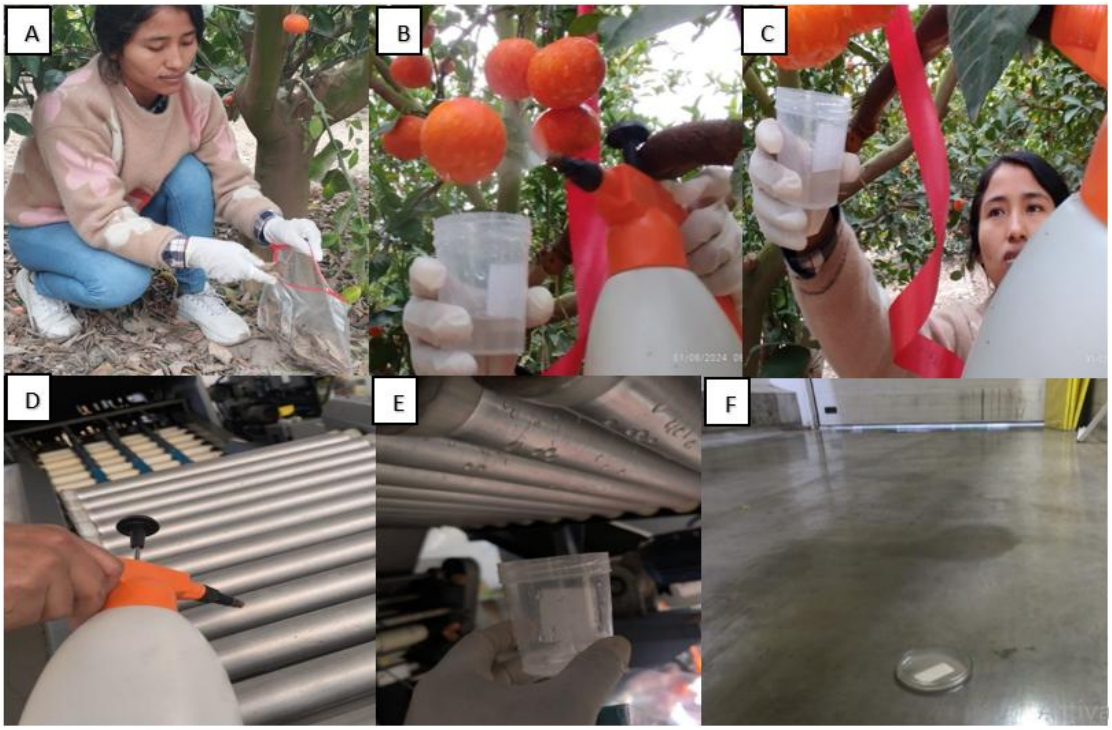
Para los asperjados en campo, se seleccionaron frutos en crecimiento y desarrollo, de 2 a más frutas juntas (figura 2), los cuales se sometieron a asperjados con un volumen conocido de agua, utilizando un atomizador manual, conteniendo agua estéril.

Para las muestras de packing, se asperjaron las superficies de puntos críticos de la línea de procesos, tales como: zona de volcado, lavado, encerado, trilla, faja y línea de selección. Una vez colectadas las muestras, se codificaron y se llevaron a laboratorio para ser analizadas

.

Figura 5

Recolección de muestras.



Nota: A) Colecta de muestras de hojarasca, B) Asperjado de frutos. C) Recojo de muestra de asperjado D) Asperjado de rodillos E) Recojo de muestra de asperjada F) Plaqueo medioambiental en cámara de frio.

4.6.2. Preparación de medio de cultivo para el aislamiento

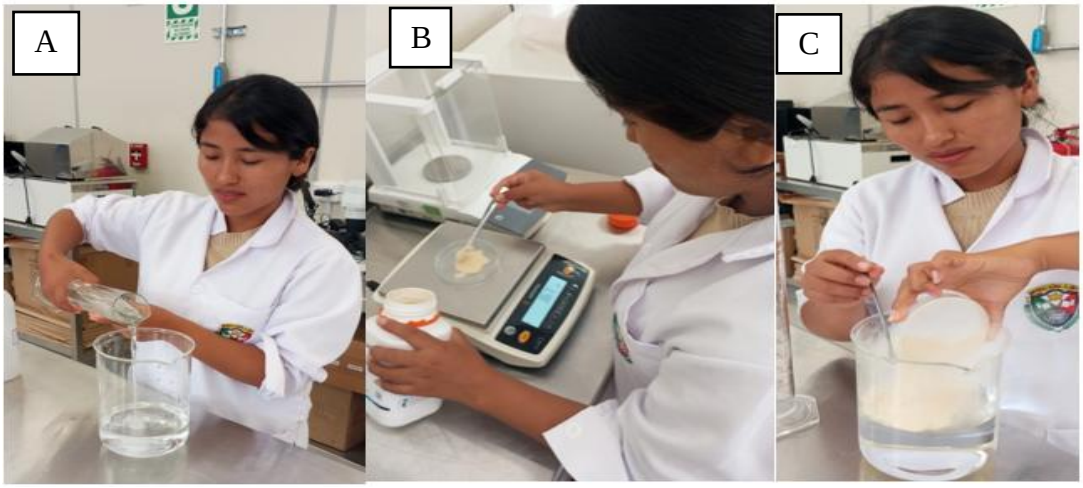
Para la preparación del medio de cultivo, se pesaron 39 g de PDA por cada 1 L de agua destilada (Figura 3), luego se llevaron al microondas por 5 minutos, una vez fría se repartieron en frascos de 150 ml, se esterilizaron en la autoclave a 121 °C por 20 minutos. Una vez que se esterilizó el medio, se realizó el plaqueo.

Figura 6

Preparación del medio de cultivo.

Nota. A) Verter agua destilada al vaso precipitado - 1lt. B) Pesar el PDA - 39 gr. C) Mezclar el PDA y el agua destilada 39 g/L.

4.6.3. Procesamiento de muestras en laboratorio

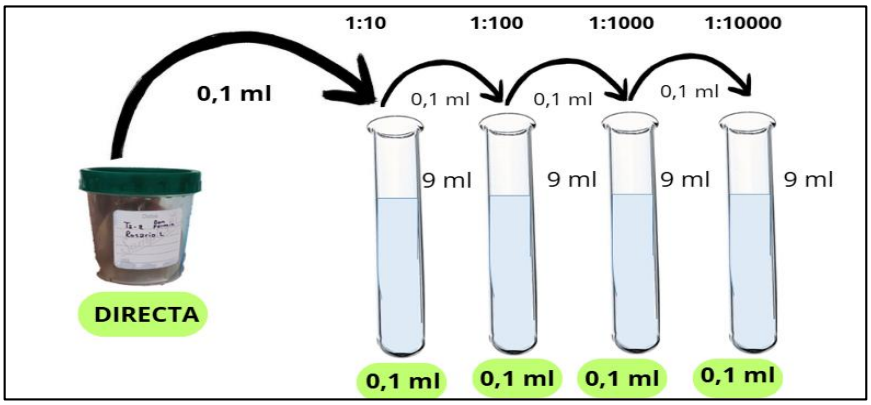


Para las muestras de hojarasca, se llenó el atomizador de agua estéril y se asperjó las hojas al interior de la bolsa con un volumen de 100 ml de agua, se colecto el agua en viales y se procedió a realizar diluciones seriadas. Este procedimiento de diluciones se hizo con agua colectada de hoja, fruto y packing, individualmente para cada muestra.

Con las muestras obtenidas se procedió a realizar las diluciones seriadas (Figura 4). Se llenaron 9 ml de agua estéril en cada tubo de ensayo, se tomó 1ml de la muestra del asperjado (hoja, fruto y packing) con la ayuda de una jeringa y se llevó a la primera pipeta con agua estéril, se agito enérgicamente durante unos segundos para garantizar que se mezclaran correctamente, luego se tomó 1ml de la nueva muestra (tubo de ensayo 1) para llevarlo al segundo tubo de ensayo, se realizó lo mismo hasta llegar al cuarto tubo de ensayo.

Figura 7

Diluciones seriadas

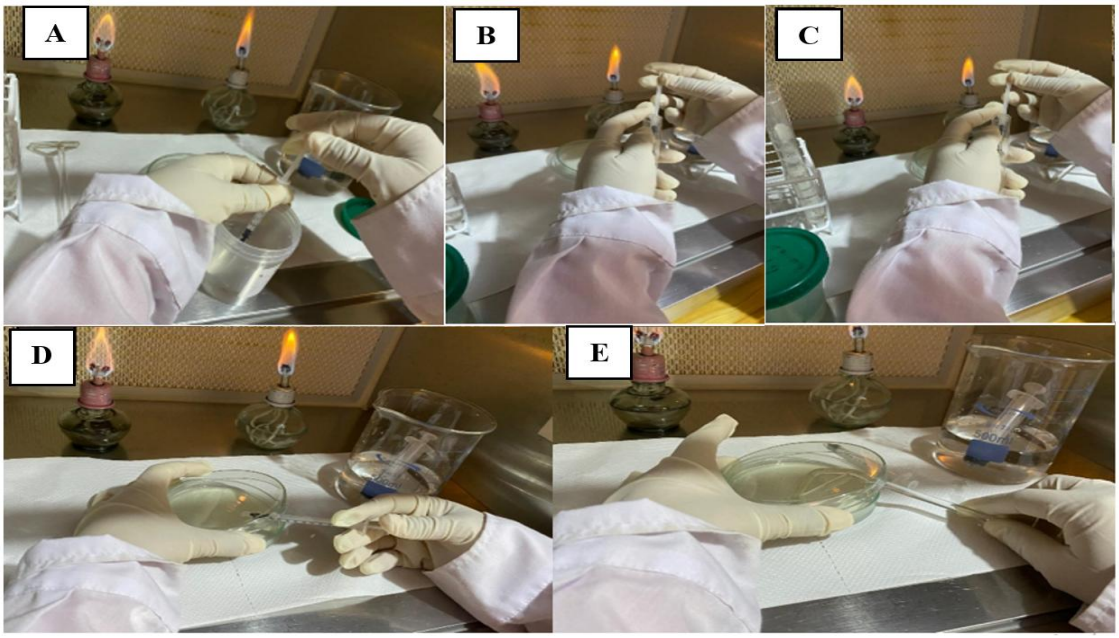


Nota. Esquema ilustrado de las diluciones seriadas

De la dilución del cuarto tubo de ensayo se sembró en una placa Petri con medio de PDA y se rotuló como 10^{-4} (1:10000), para dilución del tubo de ensayo 3 se rotulo como 10^{-3} (1:1000) y con la ayuda de un asca previamente esterilizada, se esparció la muestra en el medio de cultivo (Figura 5). Finalmente se selló las placas con parafilm y se pusieron en bolsas para ser llevadas a la incubadora con una temperatura de 18-22°C, donde esperaron 7 días para su diagnóstico, este proceso se repitió para todas las muestras.

Figura 8

Procesamiento de muestras en laboratorio.



Nota: *A) Toma de muestra del asperjado con jeringa de 1ml. B) Introducir la muestra base a la pipeta según el orden. C) Obtener 1ml de la muestra seria 10^{-4}. D) Verter la muestra 10^{-4} al medio de cultivo. E) Esparcir con la ayuda de un asca.*

4.6.4. Aislamiento de muestras.

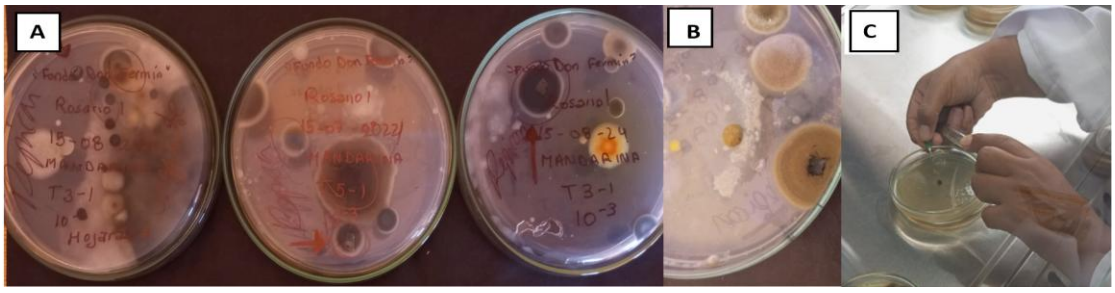
Las muestras procesadas fueron monitoreadas a partir del séptimo día hasta los diez días de haber sido sembradas, las placas que presentaron especies de *Cladosporium*, según su color y morfología visible, fueron aisladas para un proceso de repique e identificación, utilizándose las claves de Bensch et al (2012), este análisis se realizó en el laboratorio de Foliumlab E.I.R.L.

4.6.5. Repique

Se prepararon placas estériles contenida con PDA y con la ayuda de un bisturí se transfirió una porción (5 mm) del patógeno con características descriptas según Bensch et. al, (2012), como el color verde oliváceo a gris oliváceo, con bordes ligeramente ondulados (Figura 9). Este procedimiento se realizó para obtener pureza, viabilidad y crecimiento micelial.

Figura 9

Repique de muestras aisladas.



Nota. A) Muestras aisladas. B) Repique C) Siembra de 5 mm de las muestras aisladas.

4.6.6. Identificación del patógeno.

Para la identificación del patógeno se emplearon diversos procesos como: en placas de medio de cultivo, observación microscópica de estructuras morfológicas y el análisis molecular. Una vez identificado al patógeno, se seleccionaron mediante ensayos de patogenicidad las mejores cepas, utilizando finalmente en este estudio, el aislado más representativo.

4.6.6.1. Identificación a nivel de género.

Las colonias se analizaron sus características morfológicas macroscópicamente en las placas Petri a los 10 días de haber sido sembradas. Se llevaron las muestras a la cabina de flujo laminar y se evaluaron el color, la forma del micelio y la tasa de crecimiento micelial.

Para la identificación microscópica de la morfología del patógeno se rotulo el porta objeto según las muestras a evaluar y se proporcionó una gota de lactofenol azul al medio, luego se cortaron tiras de cinta adhesiva y se colocó encima del micelio, con el patógeno adherido se llevó la cinta al porta objeto de tal manera que el colorante quede en contacto con el micelio pegado a la cinta. Finalmente se colocó el cubre objeto al microscopio, donde se observó con aumentos de 10x y 40x.

4.6.6.2. Identificación a nivel de especie.

Para el análisis molecular, se utilizaron tres marcadores moleculares propuestos por Bensch et al. (2012) para una adecuada identificación de variantes de cepas *Cladosporium*, los marcadores fueron: factor de elongación 1α (EF-1α), actina (ACT), y genes ribosomales y sus correspondientes regiones intergénicas (ITS1-5S-ITS2-28S), realizado por la empresa Umbrella Genomics.

4.6.7. Preparación del alimento envenenado

Se preparó el medio de cultivo (PDA 39 g/L de agua destilada), se distribuyó 150 ml de medio en frascos, luego se esterilizaron en autoclave. Una vez esterilizados, licuados, y a una temperatura aproximada de 58 °C, se adiciono el antibiótico, excepto al *Bacillus* sp, ya que es una bacteria.

Para las dosificaciones de los fungicidas solidos se utilizó una balanza analítica con la ayuda de un papel aluminio y para los fungicidas líquidos se realizó con la ayuda de una micropipeta, según las concentraciones establecidas por la Tabla 2.

Para *Bacillus* sp se vertió en un frasco 150 ml de agua destilada sin PDA, se agregó *Bacillus* a concentración según indica la tabla 2, una vez agregado se mezcló bien con la ayuda de una cucharilla.

4.6.8. Plaqueo

Se vertió el medio envenenado a las placas y por cada tratamiento se realizó tres repeticiones teniendo un total de 69 placas incluyendo a *Bacillus* sp y testigo. Sin embargo, para *Bacillus* sp se agregó el medio a la placa sin fungicida, una vez solidificado el medio se esparció solo alrededor la solución preparada anteriormente de *Bacillus* sp y agua destilada.

4.6.9. Siembra del patógeno

Solidificado y enfriado el medio en las placas Petri se trazó dos líneas al reverso de ellas, con el objetivo de tener un punto medio. Los discos contenidos de micelio, se obtuvieron utilizando un sacabocado de 5 mm de diámetro.

Se sembró el patógeno en el centro del medio envenenado, luego se sellaron las placas con cinta parafilm y se rotularon cada una con su información respectiva. Finalmente se incubaron a 25º C, y las evaluaciones del crecimiento micelial de cada tratamiento se realizaron interdiariamente.

4.6.10. Evaluación de eficacia de los fungicidas *in vitro*

Las evaluaciones fueron interdiaria y se midió el crecimiento diametral de las colonias de cada tratamiento respecto al testigo.

Para determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento de la colonia y la eficacia de los productos sobre el patógeno, se utilizó la siguiente fórmula:

$$PI = \frac{C - T \times 100}{C}$$

Dónde:

PI: Porcentaje de inhibición (%)

C: Crecimiento del radio de la colonia del testigo (cm)

T: Crecimiento de radio de la colonia del tratamiento (cm)

4.7.Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

Toda la información durante el proceso de ejecución fue registrada en fichas de evaluación para cada tratamiento. Los instrumentos de medición fueron el termómetro para medir la temperatura y los laboratorios de la universidad para registrar el pH y la conductividad eléctrica del estiércol vacuno. Para un mejor resultado, el ensayo se desarrolló por fases, generando información secuencial y ordenada, lo que facilitó el procesamiento de los datos. Las evaluaciones fueron interdiaria y se inició a partir del segundo día hasta los 20 días de haber sembrado.

4.8.Análisis y procesamientos de datos

Previo al análisis de datos, se verifico el cumplimiento de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza utilizando el software InfoStat (versión estudiantil, 2020). La normalidad de datos se evaluó mediante la prueba de Shapiro – Wilk. Para la prueba de homogeneidad de varianza, se comprobó mediante la prueba de Levene.

Para todas las variables que cumplieron con los supuestos de normalidad y homogeneidad, se realizó la prueba estadística de contraste de Tukey a través del análisis de varianza (ANOVA), con un nivel de significancia del 5% ($p < 0.05$).

Para las variables que no llegaron a cumplir con los supuestos, se empleó un análisis de varianza no paramétrico, utilizando la prueba de Kruskal-Wallis (**)

.

Tabla 3 *Resultados de las pruebas de Normalidad y Homogeneidad de Varianza.*

	Supuestos (p valor)						
	Normalidad			Homogeneidad			
	Biológico	E. v y orgánico	Químico	Biológico	E. v y orgánico	Químico	
Día 2	0.2484	0.6113	0.0793*	0.0726	0.1506	0.1179	
Día 4	0.2018	0.2136	0.4088	0.0634	0.0922	0.0061	**
Día 6	0.2316	0.9152	0.5345	0.0007**	0.154	0.0703	
Día 8	0.0572	0.9703	0.4358	0.0591	0.0733	0.2453	
Día 10	0.7803*	0.7879	0.2608	0.0554	0.0024	0.006	**
Día 12	0.0891	0.6122	0.3864	0.0008**	0.0655	0.0052	**
Día 14	0.2855*	0.9869	0.3842	0.0008**	0.1372	0.0628	
Día 16	0.4277*	0.9686	0.4799	0.0008**	0.136	0.0052	**
Día 18	0.5355	0.9334	0.8473	0.0008**	0.1487	0.0513	
Día 20	0.9776	0.3419	0.2068	0.0957	0.108	0.0961	

*Nota: Elaboración propia (2025), **Kruskal-Wallis.*

V. RESULTADO

5.1. Resultados descriptivos

5.1.1. Crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* bajo el efecto de extractos vegetales y productos orgánicos residió cero.

En la tabla 5 se muestra los resultados de la comparación de medias según Tukey para la variable crecimiento micelial, donde el tratamiento T7 (Desfan) fue el más efectivo en inhibir el crecimiento micelial del patógeno desde el inicio hasta el final de su evaluación, seguido los tratamientos T12 (Ixibio) y T8 (Bestcure) mostrando un crecimiento hasta el día 20 de 9.43 mm, 18.4 mm y 19.23 mm respectivamente. Los tratamientos T5 (Barrera SL) y T11 (Ixibio) registraron un mayor crecimiento respecto a los demás tratamientos desde el día 8 hasta el día 20, registrando en su última evaluación 27.3 mm y 29.13 respectivamente, siendo superados solo por el testigo quien mostró un crecimiento micelial de 65.68 mm en el mismo día 20.

Los tratamientos restantes como el T13 (Kaligreen), T14 (Biko) y T17 (Copper Crop) mostraron únicamente una reducción parcial del crecimiento micelial. Aunque lograron retardar el desarrollo del patógeno, este sí presentó crecimiento desde los primeros días de evaluación, indicando una eficacia inhibitoria limitada.

En la figura 10 se observa el crecimiento micelial de los tratamientos y el testigo. La línea correspondiente al testigo presentó una pendiente elevada. Esto refleja un desarrollo micelial normal y sin restricciones. En contraste, los tratamientos de extractos vegetales presentaron una línea con menor inclinación, destacando al tratamiento T7, T5 y T11, dónde se evidencia un crecimiento notablemente reducido. Aunque el micelio incrementó ligeramente su diámetro, el avance fue limitado, alcanzando el tratamiento 7 (Desfan) solo 9.43 mm en el mismo día el testigo registro 65.68 mm. La forma más horizontal de la curva sugiere una disminución significativa en la tasa de expansión micelial.

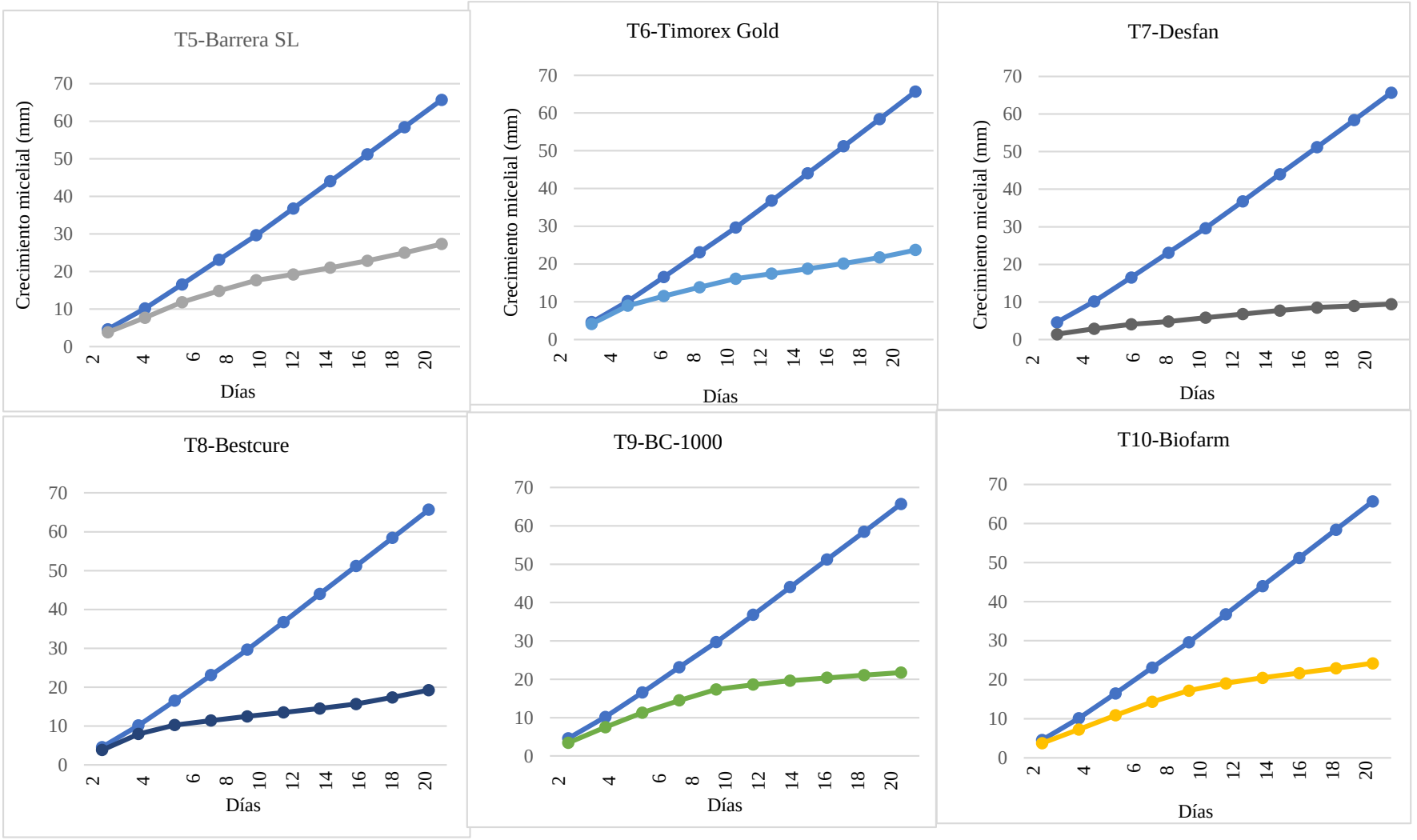
Tabla 4 *Efecto de extractos vegetales y productos orgánicos sobre el crecimiento micelial (mm/días) de Cladosporium ramotenellum del día 2 al día 20.*

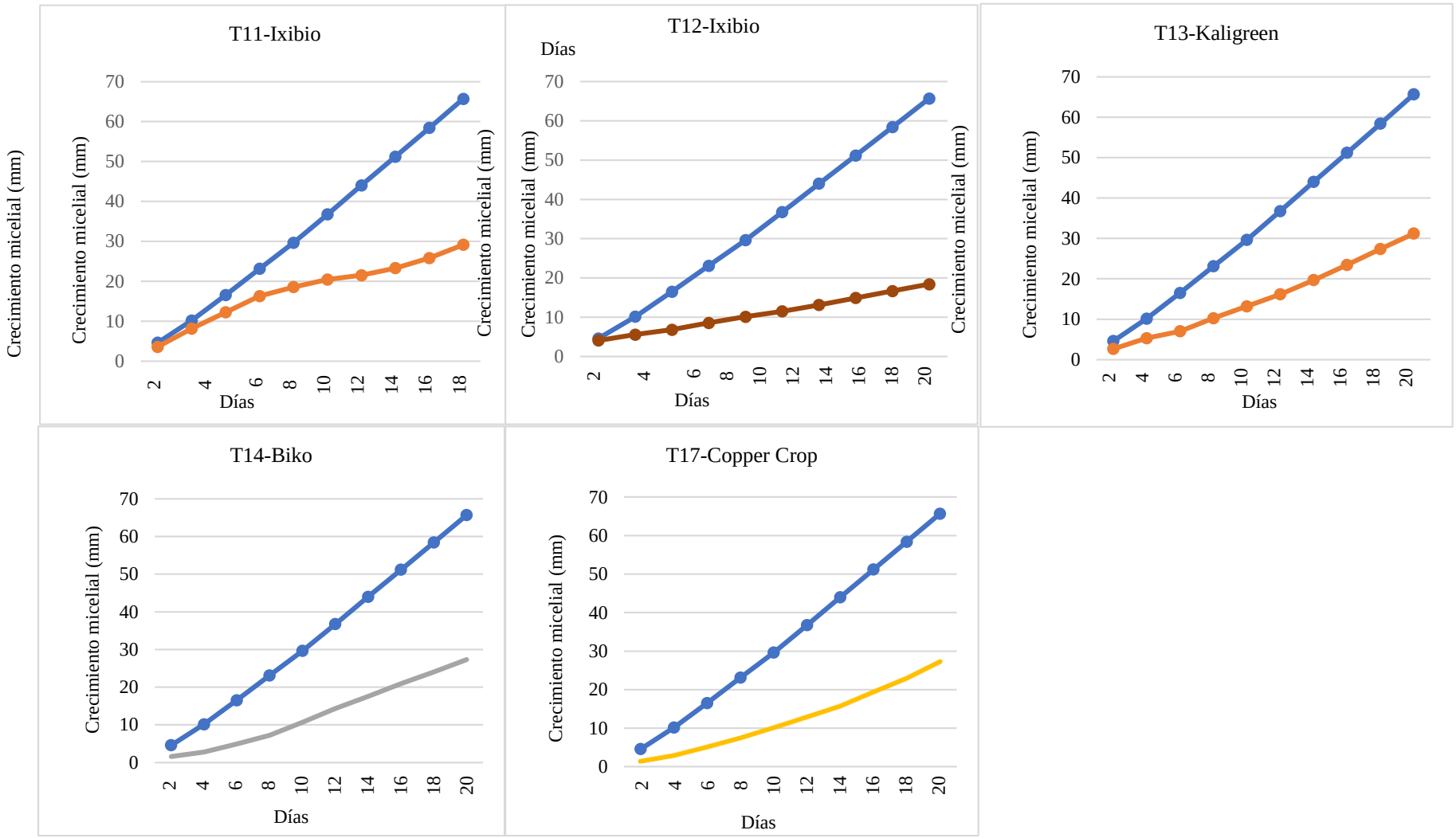
Extractos vegetales	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8	Día 10	Día 12	Día 14	Día 16	Día 18	Día 20
Testigo (T0)	4.59 C	10.15 E	16.52 D	23.12 E	29.64 E	36.76 E	44.01 E	51.2 E	58.41 F	65.68 F
Barrera SL (T5)	3.8 BC	7.68 CD	11.83 C	14.84 D	17.63 CD	19.19 CD	20.98 CD	22.85 D	24.98 DE	27.3 E
Timorex Gold (T6)	4.12 BC	8.96 DE	11.5 C	13.84 CD	16.12 C	17.43 C	18.75 C	20.13 C	21.73 C	23.7CD
Desfan (T7)	1.43 A	2.86 A	4.05 A	4.79 A	5.83 A	6.79 A	7.74 A	8.53 A	8.94 A	9.43 A
Bestcure (T8)	3.83 BC	7.96 CD	10.26 C	11.43 C	12.49 BC	13.51 B	14.52 B	15.66 B	17.37 B	19.23 B
BC-1000 (T9)	3.41 B	7.48 C	11.27 C	14.46 D	17.33 CD	18.58 CD	19.6 CD	20.37 C	21.05 C	21.73 C
Biofarm (T10)	3.77 BC	7.29 C	10.91 C	14.36 D	17.22 CD	19.08 CD	20.5 CD	21.72 CD	22.93 CD	24.23 D
Ixibio (T11)	3.55 B	8.13 CD	12.2 C	16.27 D	18.55 DE	20.43 D	21.5 D	23.27 D	25.8 E	29.13 E
Ixibio (T12)	4.1 BC	5.58 B	6.81 B	8.54 B	10.13 B	11.49 B	13.12 B	14.9 B	16.68 B	18.4 B
T13 – Kaligreen	2.66 B	5.3 B	7.03 B	10.26 C	13.21 BC	16.16 CD	19.69 CD	23.46 D	27.39 E	31.22 EF
T14 – Biko	1.59 A	2.75 A	4.9 A	7.22 B	10.67 B	14.34 B	17.53 C	20.96 C	24.05 DE	27.32 E
T17 - Copper Crop	1.51 A	2.95 A	5.17 B	7.51 B	10.13 B	12.91 B	15.72 B	19.37 C	22.89 CD	27.17 E
Promedio	3.20	6.42	9.37	12.22	14.91	17.22	19.47	21.87	24.35	27.05
ANVA	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**

Nota: Elaboración propia (2025):***: diferencias muy altamente significativa $p < 0,001$; **: diferencias altamente significativas; $p < 0,01$, letras distintas entre días indican diferencias estadísticas significativas. PTCD (Promedio de tasa de crecimiento diario).

Figura 10

Efecto de extractos vegetales y productos orgánicos sobre el crecimiento micelial de Cladosporium ramotenellum bajo la acción de extractos vegetales del día 2 al 20.





Nota: Elaboración propia (2025)

5.1.2. Porcentaje de inhibición de *Cladosporium ramotenellum* bajo el efecto de extractos vegetales y productos orgánicos residió cero.

En la figura 11 se resumen la comparación de medias los tratamientos evaluados, el tratamiento T7 (Desfan), fue el que mostró una inhibición significativamente superior frente al patógeno, posicionándose como el tratamiento más eficaz dentro del conjunto de los extractos vegetales analizados registrando una inhibición de 69.02% el día 2 y aumentando gradualmente hasta llegar a 85.64 %.

Los tratamientos T12 (Ixibio) y T8 (Bestcure), presentaron niveles de inhibición moderados al final de su evaluación con un 71.98 % y 70.72 % respectivamente.

En contraste, los tratamientos T5 (Barrera SL) y T11 (Ixibio) evidenciaron unos de los más bajos porcentajes en la investigación, registrándose en su última evaluación un 58.43 % y 55.64 % respectivamente.

Los tratamientos T14 (Biko) y T17(Copper Crop) mostraron una inhibición moderada, donde exhibieron curvas ligeramente descendentes desde los primeros días de evaluación. Iniciando con un 65.4 % y 66.73 % respectivamente y terminando con 58.39 % y 58.63 %. Aunque el crecimiento fue más lento que en el control, la pendiente negativa de las curvas evidencia que la inhibición fue moderada, con porcentajes intermedios.

El tratamiento T13 (Kaligreen) registró el porcentaje más bajo de inhibición, posicionándose como el de menor eficacia frente al patógeno. Alcanzando una inhibición inicial de 42.1%, aunque este tratamiento presento una tendencia de aumento en el control, solo llego al final de su evaluación a 52.46%.

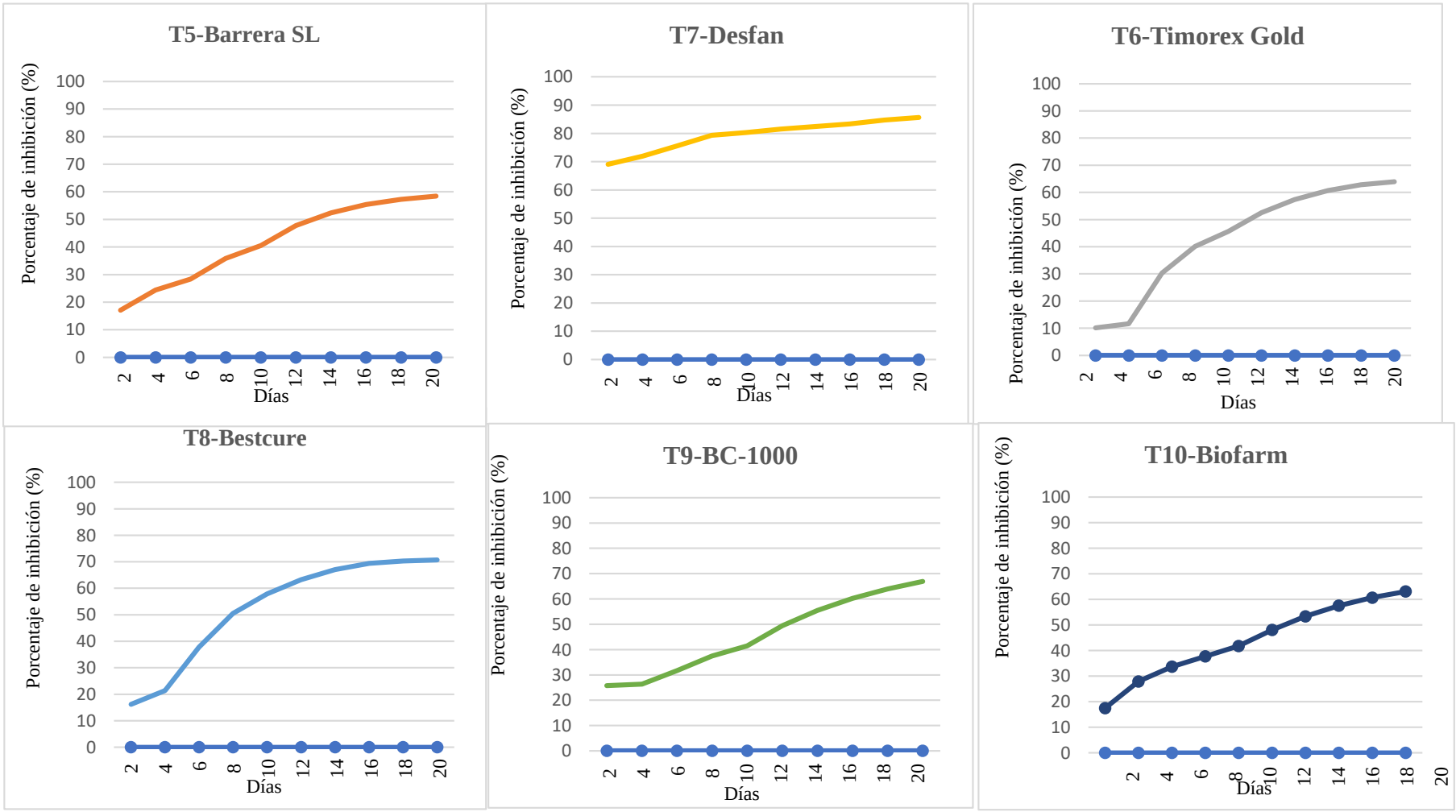
Tabla 5 *Efecto de los extractos vegetales y productos orgánicos sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de Cladosporium ramotenellum del día 2 al día 20.*

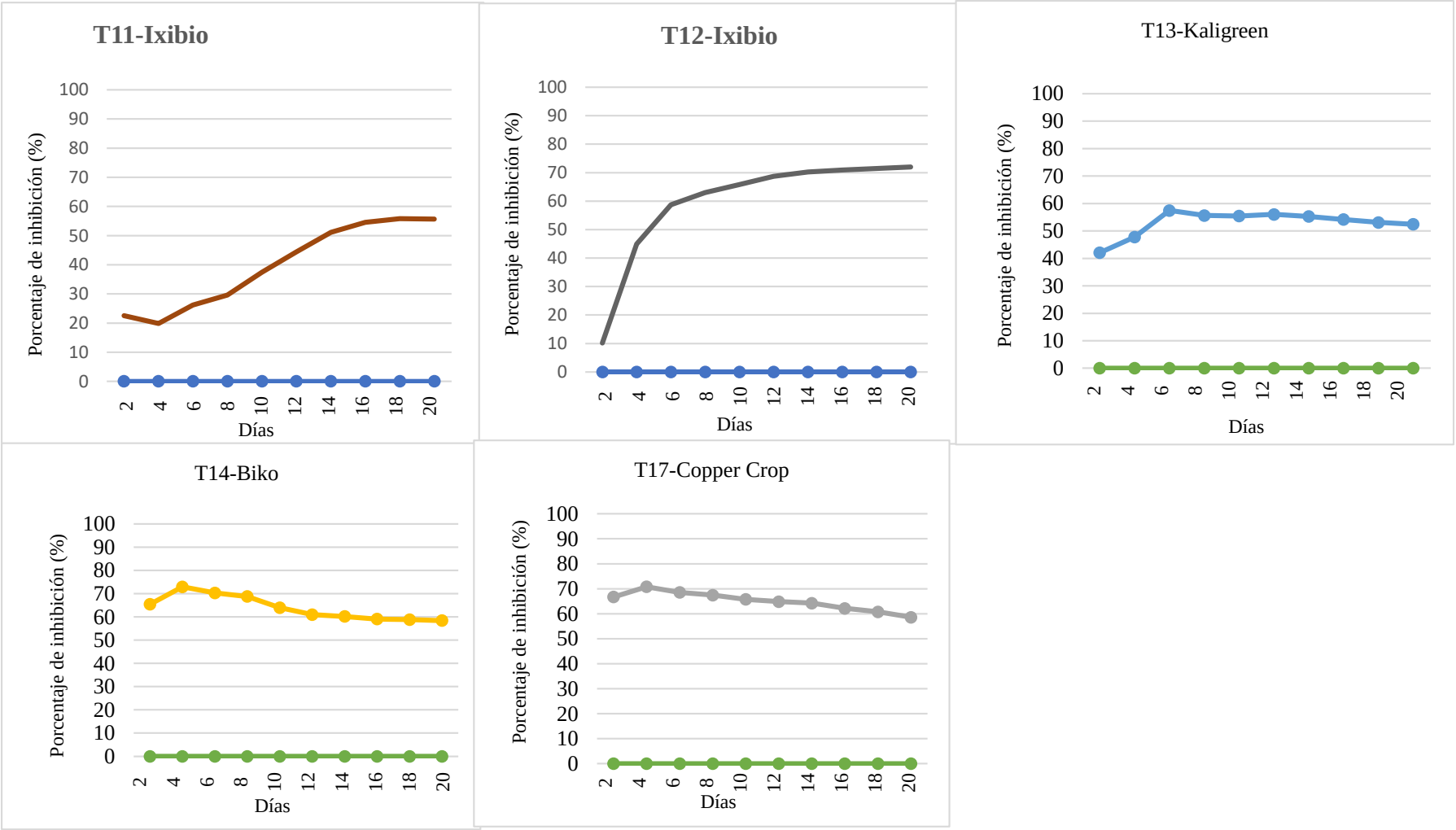
Extractos vegetales y producto orgánico	día 2	día 4	día 6	día 8	día 10	día 12	día 14	día 16	día 18	día 20
Testigo (T0)	0 c	0 d	0 d	0 e	0 e	0 e	0 e	0 d	0 e	0 e
Barrera Sl (T5)	17.11 bc	24.37 bcd	28.37 cd	35.84 cde	40.52 cd	47.8 cd	52.33 cd	55.37 cd	57.24 cde	58.43 cd
Timorex gold (T6)	10.12 bc	11.62 cd	30.31 bcd	40.09 bcd	45.62 bcd	52.58 bcd	57.4 c	60.68 bc	62.8 bcd	63.92 bcd
Desfan (T7)	69.02 a	71.95 a	75.59 a	79.32 a	80.33 a	81.53 a	82.41 a	83.34 a	84.69 a	85.64 a
Bestcure (T8)	16.19 bc	21.35 bcd	37.8 bc	50.51 bc	57.86 bc	63.25 bc	67.02 b	69.42 ab	70.26 ab	70.72 ab
Bc-1000 (T9)	25.73 b	26.32 bc	31.74 bcd	37.44 cde	41.5 bcd	49.47 cd	55.47 cd	60.22 bc	63.95 abc	66.92 abc
Biofarm (T10)	17.46 bc	27.92 bc	33.68 bcd	37.7 cde	41.81 bcd	48.06 cd	53.39 cd	57.55 bc	60.72 bcd	63.09 bcd
Ixibio (T11)	22.53 b	19.85 bcd	26.17 cd	29.65 de	37.41 de	44.41 de	51.15 d	54.56 cd	55.82 de	55.64 d
Ixibio (T12)	10.13 bc	44.93 b	58.74 b	63.01 ab	65.82 ab	68.74 ab	70.2 b	70.89 ab	71.44 ab	71.98 ab
T13 – Kaligreen	42.1 ab	47.76 b	57.45 b	55.63 b	55.45 bc	56.05 bcd	55.28 c	54.19 cd	53.1 de	52.46 d
T14 – Biko	65.4 a	72.92 a	70.33 a	68.79 ab	63.98 ab	60.99 bc	60.16 d	59.06 bc	58.82 cde	58.39 cd
T17 - Copper Crop	66.73 a	70.83 a	68.58 ab	67.47 ab	65.78 ab	64.87 ab	64.27 b	62.16 bc	60.8 bcd	58.63 cd
Promedio	30.21	36.65	43.23	47.12	49.67	53.15	55.76	57.29	58.30	58.82
ANVA	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**

Nota: Elaboración propia (2025) **: diferencias muy altamente significativa p < 0,001; **: diferencias altamente significativas; p < 0,01; *:letras distintas entre días indican diferencias estadísticas significativas.

Figura 11

Efecto de los extractos vegetales y productos orgánicos sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de Cladosporium ramotenellum del día al día 20.





Nota: Elaboración propia (2025)

5.1.3. Crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* bajo el efecto de productos químicos.

En la tabla 8 se muestra el resumen la comparación de medias según Tukey para la variable de crecimiento micelial, donde el tratamiento T20 (Luna tranquilita) registro 0 mm de desarrollo micelial desde el día 2 hasta el final del período de evaluación, lo que evidencia un efecto fungicida altamente efectivo a lo largo del ensayo.

En el caso del tratamiento T21 (Score), se observó una inhibición completa hasta el día 6, manteniéndose en 0 mm durante ese intervalo. Posteriormente, el crecimiento del patógeno aumentó levemente, aunque permaneció en niveles considerablemente inferiores respecto a los demás tratamientos, llegando al final de su evaluación con 5.06 mm, lo cual sugiere una eficacia alta, pero con una pérdida parcial del efecto en etapas posteriores.

5.1.4 Porcentaje de inhibición micelial de *Cladosporium ramotenellum* bajo el efecto de productos químicos.

En la tabla 9 y figura 11, el tratamiento T20 Luna tranquility mantuvo una línea completamente plana en el eje de porcentaje de inhibición durante todo el periodo de evaluación, registrando 100 % de inhibición desde el día 2 hasta el final. Esta tendencia confirma que T20 ejerció un efecto totalmente supresor, impidiendo por completo el desarrollo del patógeno.

El tratamiento T21 **(**Score**)** mostró una curva similar al T20 durante los primeros días, con un 100% de control hasta el día 6. Posteriormente, la línea presenta un leve descenso, indicando una disminución ligera del porcentaje de inhibición. Esto se refleja en un crecimiento mínimo del patógeno, por lo que se mantiene entre los tratamientos de mayor eficacia, registrando al final de su evaluación un 92.3 % control

Tabla 6

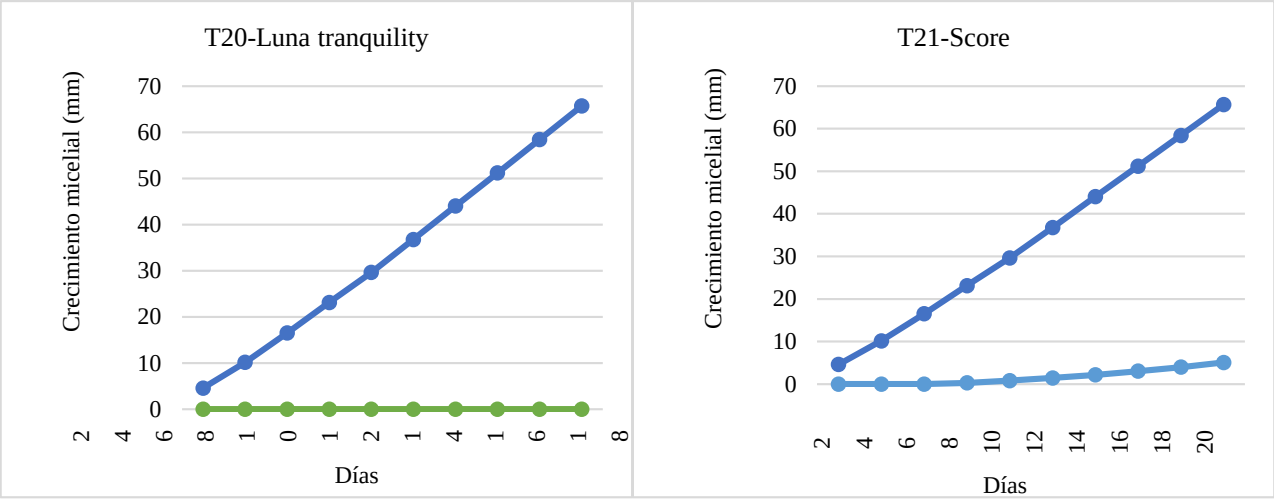
Efectos de los productos químicos sobre el crecimiento micelial de Cladosporium ramotenellum del día 2 al día 20.

Productos químicos	**Día 2**	**Día 4**	**Día 6**	**Día 8**	**Día 10**	**Día 12**	**Día 14**	**Día 16**	**Día 18**	**Día 20**
T0 – Testigo	4.59 B	10.15 B	16.52 B	23.12 C	29.64 C	36.76 C	44.01 C	51.2 C	58.41 C	65.68 C
T20 - Luna tranquility	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A
T21 - Score	0 A	0 A	0 A	0.28 B	0.81 B	1.44 B	2.17 B	3.04 B	3.98 B	5.06 B
Promedio	1.53	3.38	5.51	7.80	10.15	12.73	15.39	18.08	20.80	23.58
ANVA	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**

Nota: Elaboración propia (2025): ***: diferencias muy altamente significativa p < 0,001; **: diferencias altamente significativas; p < 0,01; *: diferencias significativas; p < 0,05; N.S.: no significativo; Letras distintas entre días indican diferencias estadísticas significativas.

Figura 12

Efecto de los productos químicos sobre el crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* del día 2 al día 20.



Nota: Elaboración propia (2025)

Tabla 7

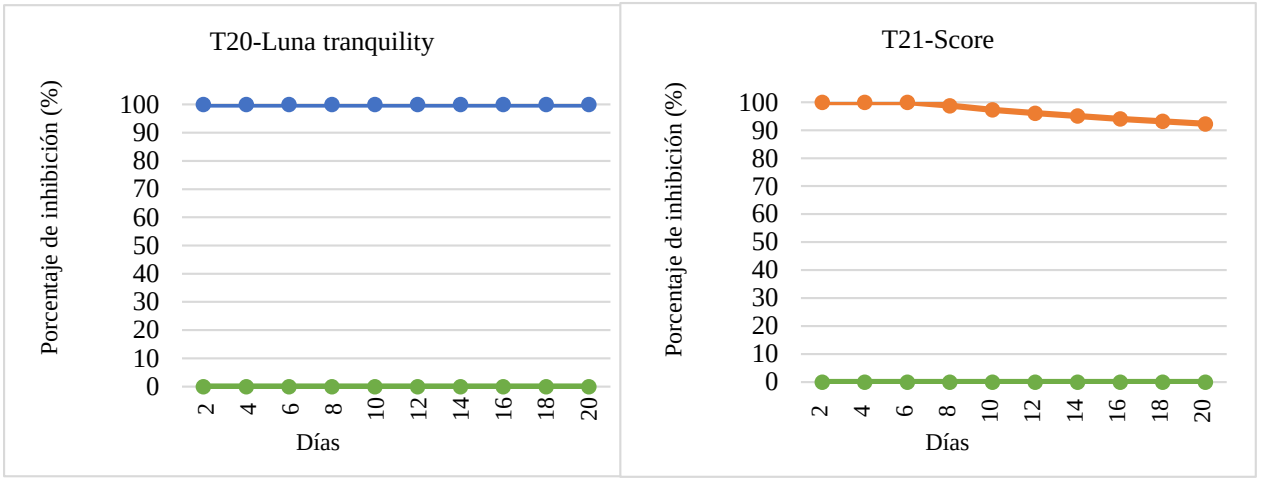
Efecto de los productos químicos sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de Cladosporium ramotenellum del día 2 hasta el día 20.

Producto químico	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8	Día 10	Día 12	Día 14	Día 16	Día 18	Día 20
T0 – Testigo	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	0 d	0 f	0 d	0 d	0 b
T20 - Luna tranquility	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
T21 - Score	100 a	100 a	100 a	98.78 a	97.28 a	96.08 ab	95.08 b	94.06 ab	93.18 ab	92.3 a
Promedio	66.67	66.67	66.67	66.26	65.76	65.36	65.03	64.69	64.39	64.10
ANVA	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**

Nota: Elaboración propia (2025): ***: diferencias muy altamente significativa $p < 0,001$; **: diferencias altamente significativas; $p < 0,01$. Letras distintas entre días indican diferencias estadísticas significativas.

Figura 13

Efectos de los productos químicos sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de Cladosporium ramotenellum del día 2 al día 20.



Nota: Elaboración propia (2025).

5.1.5. Crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* bajo el efecto de productos biológicos.

En la tabla 11 se resumen el crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* frente a los productos utilizados para su control. Los valores oscilaron de 65.68 mm y 0 mm. El menor crecimiento micelial se observó en el tratamiento T15- Jambo (Metabolitos bacterianos 0.5 L/200 L) y el mayor crecimiento del patógeno se dio en el testigo (control). Los datos reflejan que los productos biológicos utilizados presentan un efecto diferente en la inhibición del patógeno.

En el tratamiento T15 (Jambo) no se registró crecimiento, quedando con 0 mm de crecimiento micelial, lo que indica inhibición total desde el inicio del ensayo, ubicándose este tratamiento estadísticamente en el grupo A.

El T4 (Bacitab-s) presento un crecimiento micelial moderado hasta el día 10, sin embargo, a partir de ese día el desarrollo se detuvo por completo manteniendo en 17.83 mm de diámetro hasta el final del periodo de evaluación. Este comportamiento sugiere un efecto inhibitorio tardío pero efectivo, capaz de frenar la expansión del hongo una vez alcanzado un determinado nivel de desarrollo.

Los tratamientos T2 (Serifel), T3 (Serifel), T16 (Soil Set) y T19 (TrichoVIT) registraron un crecimiento menor de 10 mm al final de su evaluación con 5.45, 7.81, 7.13, 9.9 mm respectivamente. Logrando una reducción del crecimiento frente al testigo el cual llego a un máximo de 65.68 mm.

5.1.6. Porcentaje de inhibición micelial de *Cladosporium ramotenellum*.

En la tabla 9 y figura 15 se observa que el tratamiento T15 Jambo mantuvo una línea completamente plana en el eje de porcentaje de inhibición durante todo el periodo de evaluación, registrando 100 % de inhibición desde el día 2 hasta el final. Esta tendencia confirma que T15 ejerció un efecto totalmente supresor, impidiendo por completo el desarrollo del patógeno.

El tratamiento T4 (Bacitab-s) mostró una curva con un aumento exponencial en el porcentaje de inhibición empezando con un 5.08 % y terminado al final de su evaluación con 72.83%.

Los tratamientos T2 (Serifel), T3 (Serifel), T16 (Soil Set) y T19 (TrichoVIT) registraron una inhibición inicial alta de 76.92, 77.72 y 61.45 % respectivamente, este porcentaje aumento ligeramente hasta el final de su evaluación en un promedio de 15%.

El tratamiento T22 (Atena) registró el porcentaje más bajo de inhibición, posicionándose como el de menor eficacia frente a los demás tratamientos. Alcanzando una inhibición inicial de 18.66%, aunque este tratamiento presento una tendencia de aumento en el control, al final de su evaluación registro un 70.89%.

Tabla 8

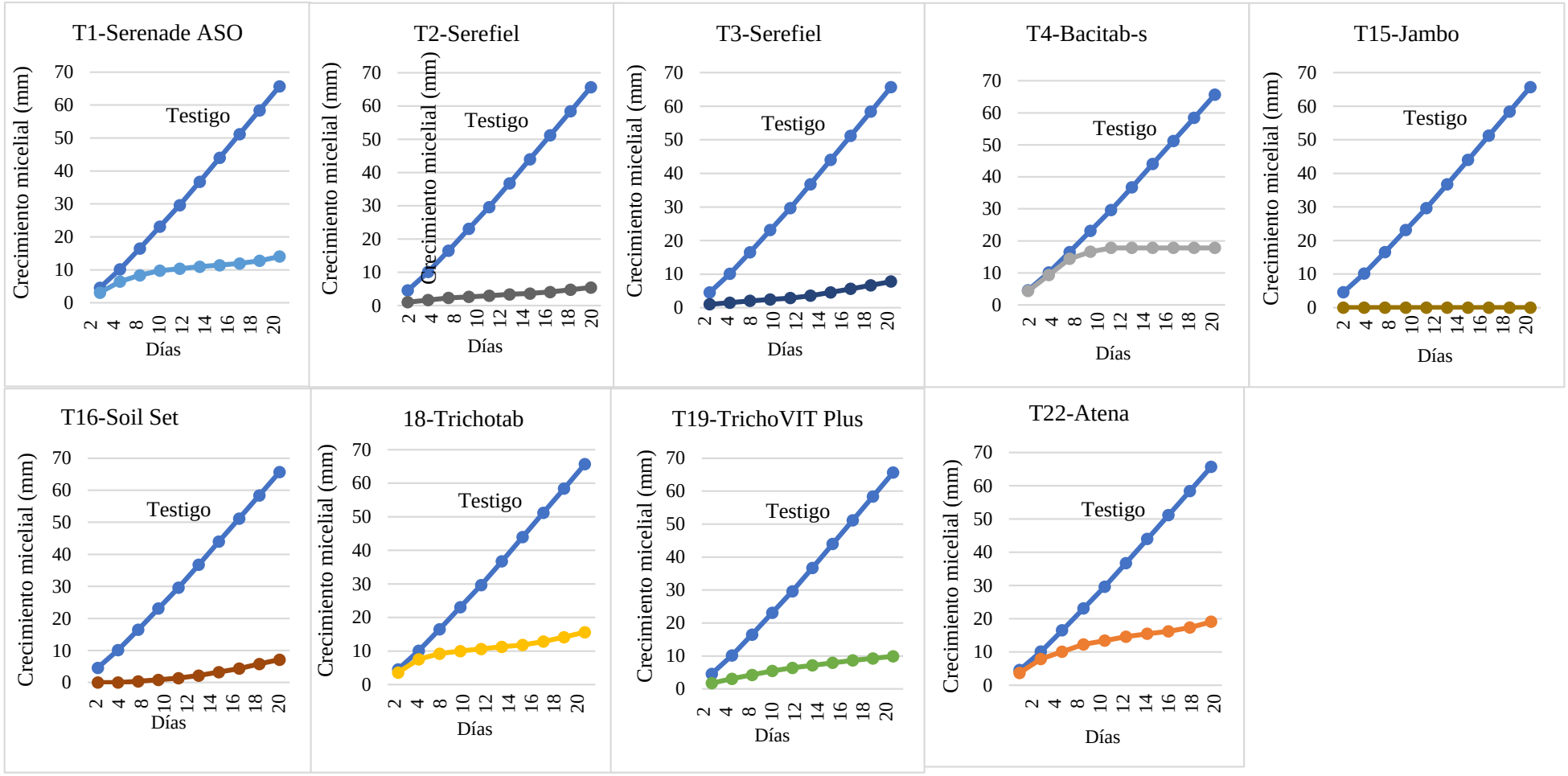
Efectos de los productos biológicos sobre el crecimiento micelial de Cladosporium ramotenellum evaluados del día 2 al día 20.

Producto biológico	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8	Día 10	Día 12	Día 14	Día 16	Día 18	Día 20
Testigo	4.59 f	10.15 d	16.52 f	23.12 h	29.64 g	36.76 e	44.01 e	51.2 e	58.41 e	65.68 h
Serenade ASO (T1)	3.11 d	6.46 d	8.38 cde	9.77 e	10.35 d	10.97 cd	11.45 cd	11.97 cd	12.76 cd	14.07 e
Serifel (T2)	1.06 b	1.7 b	2.32 bcd	2.66 c	2.99 b	3.4 ab	3.66 ab	4.12 ab	4.78 ab	5.45 b
Serifel	1.02 b	1.52 b	2.05 bc	2.46 bc	2.9 b	3.6 ab	4.58 abc	5.63 bc	6.7 bcd	7.81 cd
Bacitab-s	4.35 f	9.34 ef	14.4 ef	16.63 g	17.83 f	17.83 de	17.83 de	17.83 de	17.83 de	17.83 fg
Jambo	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
Soil Set (T16)	0 a	0.01 a	0.39 ab	0.84 ab	1.39 ab	2.2 ab	3.26 ab	4.36 ab	5.79 bc	7.13 bc
Trichotab	3.63 de	7.58 d	9.26 cde	10.02 e	10.64 d	11.28 cd	11.84 cd	12.86 cd	14.17 cde	15.64 ef
TrichoVIT Plus (T19)	1.76 c	3.12 c	4.28 bcd	5.49 d	6.43 c	7.17 bcd	7.95 bcd	8.67 bcd	9.28 bcd	9.9 d
Atena (T22)	3.73 e	7.9 de	10.1 def	12.29 f	13.44 e	14.62 cde	15.48 cde	16.25 cde	17.35 de	19.12 g
Promedio	2.325	4.778	6.77	8.328	9.561	10.783	12.006	13.289	14.707	16.263
ANVA	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**

Nota: Elaboración propia (2025): ***: diferencias muy altamente significativa $p < 0,001$; **: diferencias altamente significativas; $p < 0,01$, letras distintas entre días indican diferencias estadísticas significativas (prueba de Tukey, $p \leq 0,05$; prueba de Dunn para variables no paramétricas, $p \leq 0,05$.

Figura 14

Efectos de los productos biológicos sobre el crecimiento micelial de Cladosporium ramotenellum. evaluados del día 2 al día 20.



Nota: Elaboración propia (2025)

Tabla 9

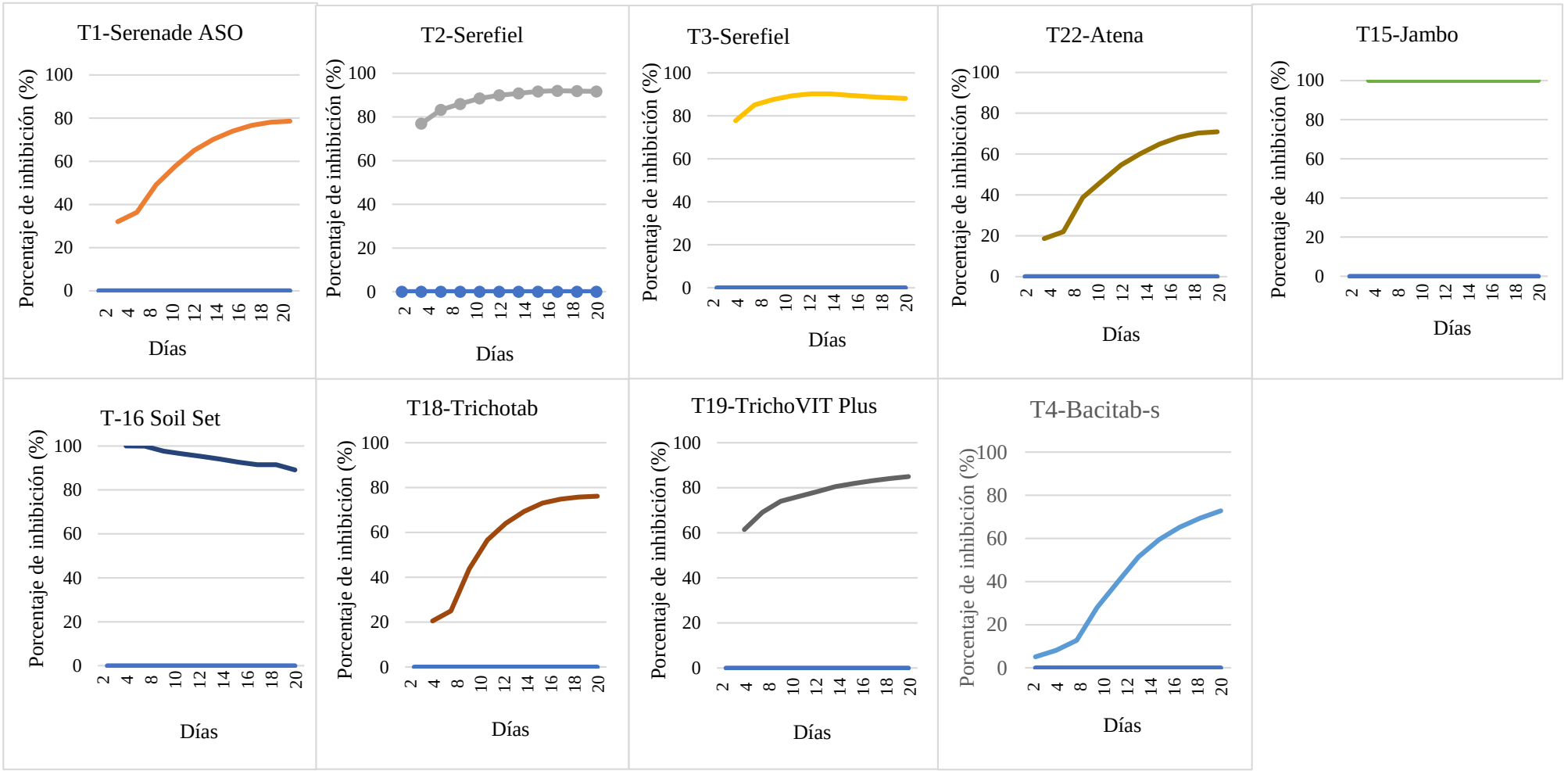
Efecto de los productos biológico sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de Cladosporium ramotenellum *del día 2 al día 20.*

Producto biológico	día 2	día 4	día 6	día 8	día 10	día 12	día 14	día 16	día 18	día 20
T0 – Testigo	0 d	0 e	0 f	0 e	0 f	0 f	0 e	0 e	0 e	0 h
T1 - Serenade ASO	32.05 cd	36.33 cde	49.18 de	57.72 cde	65.07 cd	70.17 cde	73.99 bcd	76.63 bcd	78.16 cde	78.58 e
T2 – Serifel	76.92 ab	83.24 abc	85.96 bcd	88.47 abc	89.92 abc	90.76 abc	91.68 ab	91.95 ab	91.81 ab	91.69 b
T3 – Serifel	77.72 ab	85.07 abc	87.58 abc	89.37 ab	90.22 abc	90.21 abc	89.6 abc	89.01 abc	88.52 bcd	88.11 dc
T4 - Bacitab-s	5.08 d	8.06 de	12.76 ef	28.07 de	39.79 ef	51.47 ef	59.46 de	65.16 de	69.46 de	72.83 fg
T15 – Jambo	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
T16 - Soil Set	100 a	99.94 ab	97.64 ab	96.39 ab	95.3 ab	94.03 ab	92.6 ab	91.48 ab	90.1 abc	89.14 bc
T18 – Trichotab	20.54 cd	25 cde	43.78 de	56.6 cde	64.07 cd	69.31 cde	73.08 bcd	74.88 bcd	75.74 cde	76.18 ef
T19 - TrichoVIT Plus	61.45 bc	69.12 bcd	73.99 cde	76.2 bcd	78.3 bcd	80.48 bcd	81.94 abc	83.07 bcd	84.11 bcd	84.93 d
T22 - Atena	18.66 cd	22 cde	38.76 def	46.8 cde	54.62 def	60.22 de	64.83 cde	68.27 cde	70.29 de	70.89 g
Promedio	54.71	58.75	65.52	71.07	75.25	78.52	80.8	82.27	83.13	83.59
ANVA	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**

Nota: Elaboración propia (2025): ***: diferencias muy altamente significativa $p < 0,001$; **: diferencias altamente significativas; $p < 0,01$, letras distintas entre días indican diferencias estadísticas significativas (prueba de Tukey, $p \leq 0,05$; prueba de Dunn para variables no paramétricas, $p \leq 0,05$).

Figura 15

Efecto de los productos biológico sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de Cladosporium ramotenellum del día 2 al día 20.



Nota: Elaboración propia (2025)

5.1.7. Evaluación de la eficacia *in vitro* de fungicidas residuo cero sobre *Cladosporium ramotenellum* patógeno, asociado a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*).

En la Tabla 13 se resumen el porcentaje de inhibición obtenidos en cada uno de las categorías de fungicidas evaluados en la presente investigación, desde el día 2 hasta el día 20. Los valores oscilaron entre 23.54% a 83.59%. Como podemos ver el mayor porcentaje se observó con la aplicación de productos biológicos y químicos.

Tabla 10

Efecto de los fungicidas residuo cero sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de Cladosporium ramotenellum del día 2 al día 20.

Día	día 2	día 4	día 6	día 8	día 10	día 12	día 14	día 16	día 18	día 20
E. vegetal	30.21	36.65	43.23	47.12	49.67	53.15	55.76	57.29	58.30	58.82
P. químico	66.67	66.67	66.67	66.26	65.76	65.36	65.03	64.69	64.39	64.10
P. biológico	54.71	58.75	65.52	71.07	75.25	78.52	80.80	82.27	83.13	83.59

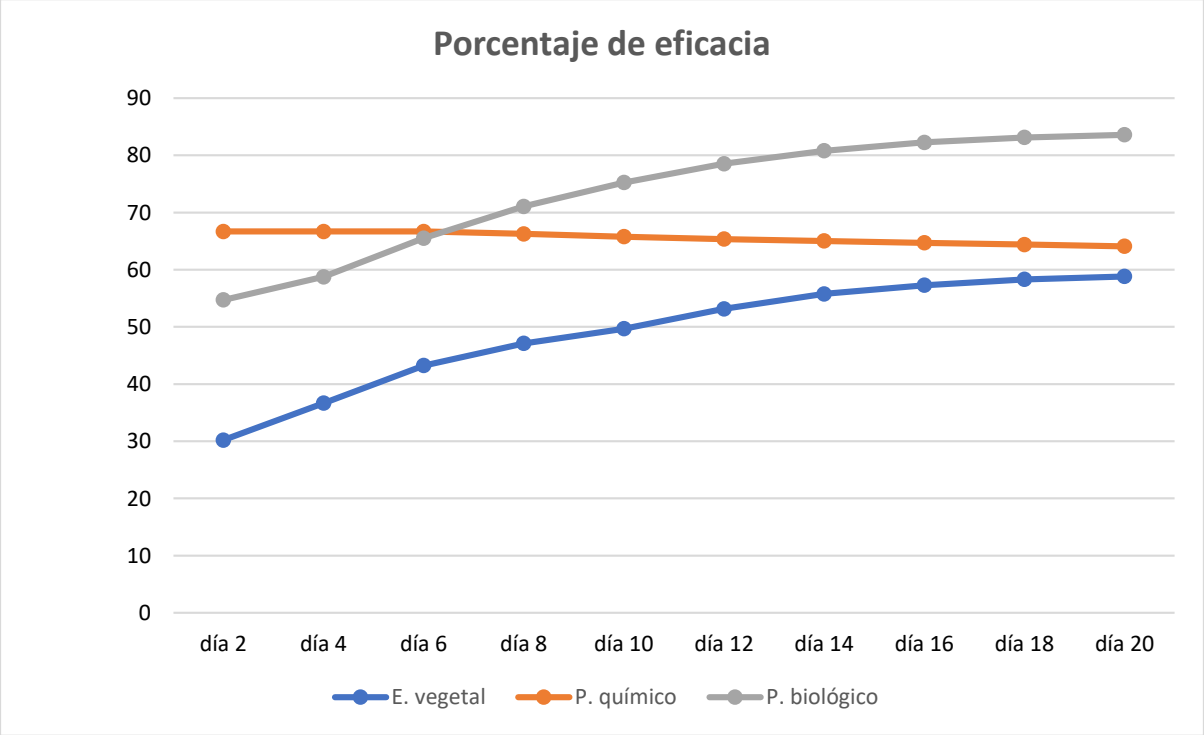
En la figura 16 se observa que los valores obtenidos con la aplicación de extracto vegetal inician con la inhibición más baja 30.21% el día 2, pero muestra un aumento continuo y lineal hasta el día 20, alcanzando aproximadamente 58.82 %.

El producto químico presenta la inhibición inicial más alta, con valores cercanos al 67% desde el día 2. Su efecto se mantiene relativamente estable hasta el día 12, donde alcanza su punto máximo 66.25 %. Posteriormente, muestra una ligera disminución hacia el día 16–20, estabilizándose alrededor de 64–65 %.

El producto biológico inicia con una eficacia intermedia (~55 % al día 2), pero presenta una tendencia ascendente constante a lo largo de toda la evaluación. A partir del día 12 supera al producto químico, alcanzando valores cercanos al 82–84 % al final del ensayo, siendo el tratamiento más eficaz al día 20.

Figura 15

Efecto de los fungicidas residuo cero sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de Cladosporium ramotenellum del día 2 al día 20.



5.2. Resultados inferenciales

5.2.1. Crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* bajo el efecto de extractos vegetales y productos orgánicos residió cero.

En la tabla 4 se observa el análisis de varianza (ANOVA) de la variable crecimiento micelial, donde se observa que existe una diferencia altamente significativa para los tratamientos de los extractos vegetales sobre el fitopatógeno *Cladosporium ramotenellum*. El coeficiente de variabilidad es de 4.6 %, resultando un valor bajo, por lo que, el diseño experimental empleado fue adecuado para el control de variaciones existentes.

Tabla 11 *Análisis de varianza del crecimiento micelial de Cladosporium ramotenellum a los 20 días después de su inoculación en medio envenenado de extractos vegetales.*

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	14510.10	11	1319.10	1987.16	<0.0001
Error	159.32	240	0.66		
Total	41150.05	359			

CV:4.6 R^2:0.99

Nota: Elaboración propia.

5.2.2. Crecimiento micelial de Cladosporium ramotenellum bajo el efecto de productos químicos

Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) para evaluar el efecto de los productos químicos sobre el crecimiento micelial. En la tabla de observa que si existe diferencia altamente significativa para los tratamientos de los productos químicos sobre el fitopatógeno *Cladosporium ramotenellum*. El coeficiente de variabilidad fue de 14.1

Tabla 12

Análisis de varianza de inhibición de crecimiento micelial de Cladosporium ramotenellum por productos químico.

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	13250	2	6625	3312.5	<0.0001
Error	120	60	2		
Total	35370	89			

CV:14.1 R^2:0.99

5.2.3. Crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* bajo el efecto de productos biológicos.

En la tabla 13 se observa el análisis de varianza (ANOVA) de la variable crecimiento micelial, donde se observa que existe una diferencia altamente significativa para los tratamientos de los productos biológicos sobre el fitopatógeno *Cladosporium ramotenellum*. El coeficiente de variabilidad es de 2.54 %, resultando un valor bajo, por lo que, el diseño experimental empleado fue adecuado para el control de variaciones existentes.

Tabla 13

Análisis de varianza de inhibición de crecimiento micelial de Cladosporium ramotenellum por productos químico.

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	8157.25	5	1631.5	3706.11	<0.0001
Error	5.28	12	0.44		
Total	8162.53	17			

CV:2.54 R^2:1

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADO

Los resultados obtenidos en esta investigación permitieron comparar la eficacia de cada categoría de productos (extracto vegetal, producto biológico y producto químico) en el crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* patógeno asociado a la "mancha de hollín" en mandarina.

De los productos de origen de extractos vegetales:

El tratamiento T7 (Desfan – extracto de semilla de toronja 0.3 L /200 L) logró obtener el porcentaje de inhibición más alta de su categoría, teniendo el día 20 un diámetro micelial de 9.43 mm y un porcentaje de inhibición micelial de 85.64 %, ubicándose estadísticamente en el primer lugar representado por la letra A. Los resultados concuerdan con el estudio que realizo Morán Pareja (2023) donde señala que la aplicación del sustrato más el extracto a base de cítricos al 0.5%, fue eficaz para el control del hongo que afecta la propagación asexual del cacao, presentando un 9,72 % de incidencia y un promedio de 4 plantas infectadas.

Ayala et al. (2015) señalan que el extracto de semilla de toronja a concentraciones de 1000 ppm y 1500 ppm, llegó a inhibir a *Sclerotinia sclorotiorum*. Este efecto se les atribuye a los compuestos bioactivos, especialmente bioflavonoides, que poseen propiedades que actúan sobre la membrana celular de los microorganismos, inhibiendo su crecimiento o causándoles la muerte.

En cuanto a los demás tratamientos evaluados a base de extractos de semilla de toronja como son el tratamiento T8 (Bestcure – extracto de semilla de toronja 0,5 L/200 L) y T9 (BC-1000 - extracto de semilla de toronja 0,5 L/200 L), obtuvieron un porcentaje de inhibición de 70.7 % y 66.9 % con respecto al testigo. Los datos obtenidos muestran que el extracto de semilla de toronja a concentraciones altas, no aumentaron la inhibición; por el contrario, se observó una merma del efecto obtenido inicialmente con el T7 (Desfan – 0.3 L/200 L), relacionando esta investigación con lo que menciono Ayala et al. (2015) que el extracto de semilla de toronja a concentraciones más bajas, el efecto puede ser nulo y a altas concentraciones pueden ser innecesarias o tóxicas.

El tratamiento T5 (Barrera SL - extracto de orégano 0.8L /200 L) evidencio porcentaje de inhibición bajo comparado con los demás tratamientos registrando el último día de su evaluación un 58.43 % de inhibición en el crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum.* En la investigación realizado por Valenzuela-Quintero et

al (2023) evidenciaron que el aceite esencial y extracto acuoso del orégano *L. palmeri* W., redujo la velocidad del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* y *Thanatephorus* sp. La dosis de 100 µL/mL fue la que tuvo menor efecto de inhibición entre 90 y 93 %, pero a medida que se iba incrementado, este tenía un control hasta llegar a un 99 y 100 %. Estos resultados con dosis de 100 mL por litro de agua (100 µL/mL) como mínimo utilizado y en contraste con la presente investigación de 4 mL por litro de agua (0.8L /200 L), evidencia que la dosis aplicada fue baja y que para obtener mejores resultados este tendría que aumentar, aunque llegar a dosis como 100 µL/mL no sería económicamente rentable.

Sempere-Ferré et al. (2021) obtuvieron resultados similares mencionados anteriormente, aplicando las dosis 100 y 150 µg/mL, de compuestos botánicos cómo eugenol y carvacrol (el carvacrol y timol son aceites esenciales que contiene el extracto de orégano) en las que no se erradicó el hongo y se registró actividad fungistática ralentizando el crecimiento en comparación con el control, con una inhibición del crecimiento micelial de 87,09 y 57,52%, respectivamente. A dosis de 300 y 200 ppm, presentaron tasas de crecimiento cero. Estos resultados demuestran que a dosis más bajas se disminuye el crecimiento, mas no erradicar por completo al hongo.

Silgado Olivero y González Aguilar (2024) describen las propiedades del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*), centrándose en su acción antimicrobiana atribuyendo a su actividad lipofílica a sus componente de carvacrol y timol, razón por la cual generan daños en las estructuras de la membrana celular, provocando la expansión de esta ocasionando un aumento en la fluidez y la permeabilidad del patógeno, inhibiendo la respiración, alterando los procesos de transporte de iones y afectando la actividad proteica.

Los tratamientos T13 (Kaligreen – Bicarbonato de potasio 0,7 kg/200L) y T14 (Biko – Bicarbonato de potasio 0,8 kg/200 L) mostraron una menor eficacia en comparación con el resto de tratamientos, registrando crecimientos miceliales de 31.22 mm y 27.22 mm respectivamente, siendo superados únicamente por el testigo (65.68 mm). El incremento de la dosis de estos tratamientos se asoció con una ligera mejora en el control, reflejada en el porcentaje de inhibición de 52 % y 58 %. No obstante, a pesar de evidenciar un efecto antifúngico moderado, estos valores no alcanzaron los niveles máximos de inhibición obtenidos en el presente estudio. Resultado similar ha sido reportado por Alvarez Romero, J. A. (2021) al determinar que tratamientos a base

de bicarbonato de potasio presentaron efecto de control de la severidad con una eficacia de 73.96 % para el control de *Oidium sp*. en el cultivo del arándano. Esto se da debido a que modificación el pH (alcalino) en la superficie de la hoja inhibiendo la germinación de esporas**,** las paredes de las hifas colapsan, creando un estrés osmótico que provoca la inhibición del crecimiento o muerte del hongo (Ordoñez–Valencia et al., 2018).

De los productos químicos evaluados:

El tratamiento T20 (Luna tranquility) mostró inhibición total del crecimiento micelial (0 mm) del patógeno, sin desarrollo visible en todas las evaluaciones realizadas, desde el día 2 al día 20, teniendo un 100% de control. Esto sugiere que la acción combinada del producto (Fluopyran + Pyrimethanil) interfiere en los procesos metabólicos claves, bloqueando la respiración celular del hongo e interfiriendo con la producción de enzimas, afectando su capacidad de colonización en el medio. Resultados similares han sido citados por Astapchuk et al. (2021) donde el fungicida Luna Tranquility, mostró una actividad antifúngica del 100% de inhibición contra *F. avenacium*, *F. oxysporum* y *A. alternata*. Martsinkevich & Krivorot, (2015) en su investigación destacaron la alta eficacia de los tratamientos con Luna Tranquility, especialmente cuando se aplicó en una dosis de 0.8 L/ha, donde se observó un marcado efecto de detención en el avance de la enfermedad. Además Abbey et al., (2024) destacaron que Luna Tranquility, redujo la incidencia en al menos un 47 % y la severidad en un 51 %, de *Botrytis cinerea*, suprimiendo el crecimiento del patógeno en etapa de cuajado (10 días después de la aplicación), sin que se detectaran residuos en las bayas cosechadas.

El tratamiento T21 (Score – Difenoconazole 0.15 kg/200 L) registro al final de su evaluación un 92.3 % de inhibición sobre el crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum*, siendo uno de los mejores tratamientos evaluados solo por debajo del T20. Resultados similares fueron hallado por Noelting et al. (2025) señalando que, a concentraciones de 250, 500 y 700 ppm de difenoconazole registró un promedio de inhibición en la germinación de los conidios en un 88,06 % y para inhibición del crecimiento micelial controlaron en promedio un 31 % sobre *Alternaria alternata* en semillas de amaranto.

Parrales et al. (2022) mencionan que el difenoconazol aplicado sobre Roya en Soja a concentraciones de 400 cc/ha + estrobilurinas 400 cc/ha presentó una incidencia de 84.96%, pero una severidad de solo 19.33% mostrando una actividad fungicida sobre el patógeno.

De productos biológicos utilizados en esta investigación

El T15 (Jambo – Metabolitos bacterianos 0.5 L/ 2000 L) demostró ser el más eficaz teniendo inhibición completa del crecimiento micelial durante los 20 días de evaluación sin registrar aumento en el diámetro de su colonia desde su inoculación logrando obtener el valor más alto con un 100% de inhibición. Investigación similar realizado por Quiñones (2022) determino la capacidad inhibitoria de metabolitos secundarios obtenidos de cepas de *Bacillus* spp, teniendo a *Bacillus subtilis* como la que obtuvo un mayor porcentaje de inhibición contra el desarrollo de *Rhizoctonia* sp. (5,53 cm2). Gómez (2016) reportó que los metabolitos bacterianos presentan una disminución en la infección fúngica cuando llegaron a tener contacto con las semillas infectadas. Este efecto se les atribuye que tiene enzima proteolítica, las cuales degradan las paredes celulares fúngicas impidiendo el crecimiento y esporulación del patógeno al entrar en contacto directo.

Salas (2023) encontró mediante análisis multilocus y la técnica de BOX-PCR. que *Bacillus velezensis* cumple un mecanismo de antibiosis producidos por los metabolitos bacterianos que fueron identificados como lipopéptidos cíclicos, conocidas como surfactinas, iturinas y fengicinas; cuyos miembros, debido a su estructura, poseen una naturaleza anfifílica, lo que les confiere la capacidad de interferir con estructuras de membranas biológicas de diversos organismos (Zhao et al., 2017), una propiedad clave para el control biológico

El tratamiento T4 (Bacitab-s – *Bacillus subtilis 0.20 kg /200 L*) presento un crecimiento micelial moderado durante los primeros días alcanzando una media de 17.83 mm de diámetro y a partir del día 10 se detuvo su crecimiento completamente. Sá et al. (2022) señalan que B. *subtilis* tienen potencial como antagonistas frente a Fusarium sp., siendo responsable de inhibir el 59,4% del crecimiento del diámetro de colonias del agente causal de la fusariosis.

Figueiroba (2024), demostró en su investigación la actividad antifúngica de *Bacillus subtilis*, genero un fuerte efecto antagonista *in vitro* contra *Fusarium,* y que la inhibición del crecimiento fúngico aumenta con la concentración del inóculo bacteriano, según la investigación este efecto es resultado de que los lipopéptidos rompen la integridad de la membrana y alteran procesos internos del hongo, causando daños morfológicos y deteniendo su crecimiento. Otro resultado similar obtuvieron Valenzuela Q. et al. (2023) demostrando que las bacterias del género *Bacillus* son

capaces de producir lipopéptidos antifúngicos, como surfactinas e iturinas. Incluso, algunas cepas, como *B. subtilis*. tienen la capacidad de sintetizar ambos tipos de lipopéptidos simultáneamente. Orberá et al. (2014) evaluaron las aplicaciones potenciales de *Bacillus subtilis* para el control de hongos fitopatógenos, destacando la capacidad de *B. subtilis* de inhibir el crecimiento micelial de hongos fitopatógenos mediante la producción de metabolitos secundarios, principalmente lipopéptidos.

Los tratamientos T2 (Serifel - *Bacillus amyloliquefaciens* 0.25 kg / 200L) y T3 (Serifel *Bacillus amyloliquefaciens* - 0.20 kg/ 200 L) registraron un porcentaje de control de 91.69 % y 88.11% respectivamente contra *Cladosporium ramotenellum*, este porcentaje está directamente proporcional con la dosis aplicada, ya que al disminuir la dosis el porcentaje bajó ligeramente. En estudios similares realizado por Lan et al. (2024) realizaron análisis de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) a *Bacillus amyloliquefaciens* e identificaron genes de que codifican lipopéptidos antimicrobianos, asociados con la síntesis de fengicina, iturina y surfactina. Estos hallazgos respaldaron el efecto antagonista sobre *R. solani*, lo que sugiere su potencial como agente de control biológico eficaz para el control de la sarna negra de la papa con una actividad inhibitoria contra *R. solani* de 60,56 %,

Los tratamientos T18 (Trichotap - *Trichoderma* spp 0.25 kg/200 L) y T19 (TrichoVIT- *Trichoderma* spp 0.15 kg /200L) inhibieron el crecimiento de *Cladosporium* en un 76.18 y 84.94 % en su última evaluación, resultados similares obtuvo Cruz (2025) al realizar pruebas de antagonismo de enfrentamiento de cepas de *Trichoderma* spp sobre tres especies de *Cladosporium* obteniendo un 53.86%, 51.7% y 56.19% respectivamente de inhibición del crecimiento micelial del patógeno. Gonzales et al. (2020) mencionaron que *Trichoderma* sp. logró un porcentaje de antagonismo de menos del 50 %, pero este fue aumentando progresivamente a medida que la concentración se intensificaba, por lo que es necesario aumentar la concentración para lograr mejores resultados, debido a la actividad enzimática que presentan hacia el patógeno de antibiosis y por competencia.

Finalmente, los resultados de esta investigación indican que los productos a base de extractos vegetales presentan una respuesta incremental, con eficacia moderada que mejora con el tiempo, aunque sin alcanzar los niveles del biológico ni del químico. Esto podría deberse a una actividad antifúngica dependiente de concentración y estabilidad de los compuestos fenólicos o terpenoides. Los fungicidas químicos en promedio

ofrecen un control rápido y consistente, pero evidencia una leve pérdida de eficacia en etapas finales, lo cual puede responder a degradación del ingrediente activo, adaptación micelial o reducción residual. En los productos biológicos utilizados, los ´porcentajes exhiben un efecto progresivo y acumulativo, característico de microorganismos antagonistas que requieren tiempo para colonizar, competir y producir metabolitos antifúngicos. Demuestra la mayor capacidad de inhibición sostenida frente a *Cladosporium ramotenellum.*

VII. CONCLUCIONES

De los productos de origen de extractos vegetales:

El tratamiento T7 (Desfan – extracto de semilla de toronja 0.3 L /200 L) logró obtener el porcentaje de inhibición más alta de su categoría, teniendo el día 20 un diámetro micelial de 9.43 mm y un porcentaje de inhibición micelial de 85.64 %, ubicándose estadísticamente en el primer lugar representado por la letra a.

Los tratamientos T8 (Bestcure – extracto de semilla de toronja 0,5 L/200 L) y T9 (BC-1000 - extracto de semilla de toronja 0,5 L/200 L), obtuvieron un porcentaje de inhibición de 70.7 % y 66.9 % con respecto al testigo. Los datos obtenidos muestran que el extracto de semilla de toronja a concentraciones altas, no aumentaron la inhibición; por el contrario, se observó una merma del efecto obtenido inicialmente el extracto de semilla de toronja a concentraciones más bajas.

Los tratamientos T13 (Kaligreen – Bicarbonato de potasio 0,7 kg/200L) y T14 (Biko – Bicarbonato de potasio 0,8 kg/200 L) mostraron una menor eficacia en comparación con el resto de los tratamientos, registrando crecimientos miceliales de 31.22 mm y 27.22 mm respectivamente, siendo superados únicamente por el testigo (65.68 mm).

El tratamiento T5 (Barrera SL - extracto de orégano 0.8L /200 L) evidencio uno de los porcentajes más bajo comparado con los demás tratamientos registrando el último día de su evaluación un 58.43 % de inhibición en el crecimiento micelial de *Cladosporium ramotenellum* en las que no se erradicó el hongo y se registró actividad fungistática ralentizando el crecimiento en comparación con el control.

De los productos químicos evaluados:

De los productos químicos evaluados, el T20 (Luna tranquility) mostro inhibición total del crecimiento micelial (o mm) del patógeno, sin desarrollo visible en todas las evaluaciones realizadas, teniendo un 100% de control. Esto sugiere que la acción combinada del producto (Fluopyran + Pyrimethanil) interfiere en los procesos metabólicos claves, bloqueando la respiración celular del hongo e interfiriendo con la producción de enzimas, afectando su capacidad de colonización en el medio.

De productos biológicos utilizados en esta investigación

El tratamiento T15 (Jambo – Metabolitos bacterianos 0.5 L/ 2000 L) demostró ser el más eficaz teniendo inhibición completa del crecimiento micelial durante los 20 días de evaluación sin registrar aumento en el diámetro de su colonia desde su inoculación logrando obtener el valor más alto con un 100% de inhibición. Este efecto se les atribuye que tiene enzima proteolítica, las cuales degradan las paredes celulares fúngicas impidiendo el crecimiento y esporulación del patógeno al entrar en contacto directo.

El T4 (Bacitab-s – *Bacillus subtilis* 0.20 kg/ 200 L) presento un crecimiento micelial moderado durante los primeros días alcanzando una media de 17.83 mm de diámetro y a partir del día 10 detuvo el crecimiento del patógeno por completo, finalizando la investigación con 72.83 % de inhibición.

Los tratamientos a base de *Bacillus amyloliquefaciens* T2 (Serifel - 0.25 kg / 200L) y T3 (Serifel - 0.20 kg/ 200 L) registraron un porcentaje de control de 91.69 % y 88.11% respectivamente contra *Cladosporium ramotenellum*, este porcentaje está directamente proporcional con la dosis aplicada, ya que al disminuir la dosis el porcentaje bajó ligeramente.

Los extractos vegetales muestran una eficacia moderada pero creciente, debido a compuestos como fenoles y terpenoides, que actúan dañando membranas y afectando procesos metabólicos del hongo; su acción depende de la concentración y estabilidad de estos metabolitos. Los fungicidas químicos mantienen un control rápido y elevado gracias a ingredientes activos específicos, como triazoles o estrobilurinas, según el producto, que inhiben rutas esenciales del hongo, su ligera disminución final puede deberse a degradación del ingrediente activo o adaptación del patógeno. Los productos biológicos muestran el incremento más sostenido en inhibición, ya que incluyen microorganismos antagonistas capaces de producir lipopéptidos, sideróforos, enzimas líticas y antibióticos naturales; estos requieren tiempo para colonizar y establecer competencia, lo que explica su eficacia creciente frente a *Cladosporium ramotenellum*.

VIII. RECOMENDACIONES

Se sugiere realizar estudios adicionales sobre la dosis óptima del *T4 (Bacitab-s – Bacillus subtilis* 0.20 kg/ 200 L) el cual presento un crecimiento micelial moderado durante los primeros días y a partir del día 10 detuvo el crecimiento micelial por completo. De igual manera para *Bacillus amyloliquefaciens* debido a que al disminuir la dosis el porcentaje bajó ligeramente. registraron un 91.69 % y 88.11% de control respectivamente contra *Cladosporium ramotenellum*,

Se recomienda el uso de Jambo (metabolitos bacterianos) para el control de *Cladosporium ramotenellum*, dado que en esta investigación demostró una inhibición micelial del 100 % contra el patógeno. Estos resultados evidencian su alta eficacia, por lo que su aplicación constituye una alternativa viable dentro de un manejo integrado de enfermedades en el cultivo.

En post-cosecha, no se deben usar fungicidas químicos; en su lugar, se recomienda continuar con extractos vegetales y productos biológicos, junto con el uso de sales seguras (como bicarbonato de potasio), que ayudan a impedir la germinación del hongo sin generar residuos.

Se recomienda realizar ensayos a nivel de campo que permitan validar los resultados obtenidos en laboratorio, evaluando la eficacia de los productos en condiciones reales de cultivo. Para ello, se sugiere establecer parcelas experimentales con un diseño estadístico, que faciliten la comparación de tratamientos y el análisis de su impacto en la reducción de la enfermedad.

IX. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

Abbey, J., Percival, D., Jaakola, L., & Asiedu, S. K. (2024). Efficacy, persistence and residue levels of fungicides for Botrytis control in wild blueberry. *ScienceDirect. 179* (106633), 1-10. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2024.106633

Adama. (2021, 13 de diciembre). *Botrytis en cítricos.* Recuperado de: https://www.adama.com/peru/es/actualidad-adama/botrytis-cinerea-una-enfermedad-devastadora-en-mandarina-y-citricos

Agraria.pe. (2025, 18 de junio). *Exportaciones peruanas de mandarinas frescas crecen 81 % en volumen y 73 % en valor hasta la semana 22*. Recuperado de: https://agraria.pe/tag/mandarina#:~:text=Despachos%20alcanzaron%20las%2053.143%20toneladas,igual%20periodo%20del%20a%C3%B1o%20anterior

Agriculture. (2022). *Fungicida biológico Serifel.* Recuperado de: https://agriculture.basf.com/ar/es/proteccion-de-cultivos-y-semillas/productos/Serifel

Agrisolver. (2019, junio). *Pesticida Trichoplus*. Recuperado de: https://www.agrisolver.com/productos-para-control/tricho-plus

Agroactivo. (2021). *Bacillus amyloliquefaciens*. Recuperado de: https://agroactivocol.com/producto/sanidad-vegetal-alimentos-saludables/bacillus-amyloliquefaciens-serenade/

Agrobayer. (2022). *Protección de Cultivos*. Recuperado de: https://www.agro.bayer.pe/es-pe/productos/product-details.html/fungicide/prosper.html

Agrobesser. (2022). *Barrera 1L, Extracto de Orégano*. Recuperado de: https://agrobesser.com/fungicidas/barrera-1l-extracto-de-oregano-fungicida-agricola-sistemico-montana-5117.html

Abrobesser. (2024, mayo 11). *Kaligreen 1Kg, Fungicida Bicarbonato de potasio.* Recuperado de: https://summit-agro.com/pe/es/producto/kaligreen/

Agrocube. (2024). *Ixibio*. Recuperado de: https://www.agrocube.com.ar/ixibio/

Agustí, M., Mesejo, C., & Reig, C. (2020). *Citricultura.* (3rd ed.). Ediciones Mundi-Prensa. https://books.google.com.pe/books?id=Dt7sDwAAQBAJ

Alarcón Restrepo, J. J., Arévalo Peñaranda, E., Díaz Jiménez, A. L., Galindo Álvarez, J. R., & Rivero Cruz, M. R. (2012). *Manejo fitosanitario del cultivo de cítricos: medidas para la temporada invernal.* Instituto Colombiano Agropecuario. https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/2288

Alvarez Romero, J. A. (2021). *Alternativa de control de la oïdiosis en arándano (Vaccinium corymbosum) orgánico en Piura.* [Tesis para optar el grado de ingeniero Agrónomo, Universidad Nacional Agraria La Molina]. https://hdl.handle.net/20.500.12996/5258

Ancillo, G., & Medina, A. (2015). *Los cítricos, Jardín Botánico.* Universidad de Valencia. https://redivia.gva.es/handle/20.500.11939/6970

Aristizabal González, J. D. (2011). *Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos de las cáscaras y semillas de tres especies de cítricos contra el hongo fitopatógeno Fusarium Roseum*. [Tesis de pregrado, Pontificie Universidad Javeriana de Bogotá]. https://repository.javeriana.edu.co/items/9c3e6ded-c0b2-4159-94c1-c64d50377704

Astapchuk, I., Yakuba, G., & Nasonov, A. (2021). Efficacy of fungicides against pathogens of apple core rot from the genera *Fusarium Link, Alternaria Nees and Botrytis* (Fr.) under laboratory conditions. *E3S Web of Conferences*. *285*, 03015. https://doi.org/10.1051/e3sconf/202128503015

Ayala Armenta, Q. A., Cortez Mondaca, E., Apodaca Sánchez, M. Á., Leal León, V. M., Valenzuela Escoboza, F. A., Palacios Mondaca, C. A., Ayala Armenta, Q. A., Cortez Mondaca, E., Apodaca Sánchez, M. Á., Leal León, V. M., Valenzuela Escoboza, F. A., & Palacios Mondaca, C. A. (2015). Efectividad de fungicidas convencionales y

biorracionales sobre *Sclerotinia sclerotiorum in vitro*. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, (11) 2149-2156. https://doi.org/10.29312/remexca.v0i11.784

Baard, V., Bakare, O. O., Daniel, A. I., Nkomo, M., Gokul, A., Keyster, M., & Klein, A. (2023). Biocontrol potential of Bacillus subtilis and Bacillus tequilensis against four Fusarium species. *Pathogens 12, 254.* https://doi.org/10.3390/pathogens12020254

Badaracco, P., Sortino, M., & Pioli, R. N. (2020). Estudio de compuestos vegetales con potencial acción antifúngica sobre patógenos de plantas cultivadas. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, *36*(3), 244-252. https://doi.org/10.29393/chjaas36-23ecpb30023

Baraona Cockrell, M., & Sancho Barrantes, E. (2000). *Críticos fruticultura especial*. Ediciones Euned. https://www.google.com.pe/books/edition/citricos_fruticultura_especial/CYq_tzwi4FIC?hl=es&gbpv=1&dq=ORIGEN+DE+LOS+CITRICOS&pg=PA26&printsec=frontcover

Bensch, K., Braun, U., Groenewald, J. Z., & Crous, P. W. (2012). The genus *Cladosporium*. *Studies in Mycology*. *72*(1), 1-401. https://doi.org/10.3114/sim0003

Bensch, K., Groenewald, J. Z., Braun, U., Dijksterhuis, J., de Jesús Yáñez-Morales, M., & Crous, P. W. (2015). El reino en expansión de *Cladosporium*. *Studies in Mycology*, *82*, 23-74. https://doi.org/10.1016/j.simyco.2015.10.001

BIOSCIENCE. (2024). *Bestcure fungicida natural.* Recuperado de: https://www.futurecobioscience.com/p/bestcure/

Caiza Coque, A. J. (2024). *Evaluación de la capacidad antagónica de Bacillus subtilis AC01 microencapsulado frente a Cladosporium fulvum CC-FCAGP-Cf-Epi10 y Botrytis cinerea CC-FCAGP-Bc-MG001 hongos fitopatógenos del tomate riñón (Solanum*

lycopersicum) [Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Ambato]. https://repositorio.uta.edu.ec/items/2e01e264-8047-4c64-9017-b46cdd618fd2

Chávez Manrique, C. A., Fernandez Arana, V. E., & Miranda Ipince, L. F. (2024). *Plan de negocio para la creación de una empresa de comercialización de mandarinas en el norte de Lima* (Tesis de maestría, Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas). https://hdl.handle.net/10757/673346

Chermie. (2024). *BC-1000 Liquid.* Recuperado de: https://chemiesa.com/producto/bc-1000-liquido/

Colonia, L. M. (2013). *Manejo integrado de plagas y enfermedades en el cultivo de cítrico*. Recuperado de: https://www.agrobanco.com.pe/data/uploads/ctecnica/013-d-citricos.pdf

Cropsprotection. (2024). *Cobre orgánico.* Recuperado de: https://www.cropsprotection.pe/productos/detalle/crops-cobre

Cumbal, B. A. (2021). *Evaluación de tres productos de síntesis biológica para el control de oídio (Sphaerotheca pannosa) en el cultivo de rosas (Rosa sp.), var. Gotcha, en el cantón Pedro Moncayo, provincia de Pichincha 2021*. [Tesis para optar el grado ingeniero agrónomo, Universidad Técnica de Cotopaxi]. http://localhost/handle/27000/8095

Cruz Solórzano, Á. J. (2025). *Aislamiento e identificación de cepas nativas de Trichoderma spp. de campos de cítricos para el biocontrol de Cladosporium spp.* [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Agraria La Molina]. Universidad Nacional Agraria La Molina.

FactorAgro. (2023). *Soil-set root.* Recuperado de https://factoragro.es/producto/soil-set-root/

FARMAGRO. (2024). *BIOFARM - Extracto de Gobernadora (Larrea tridentata)*. Recuperado de: http://www.farmagro.com.pe/p/biofarm/

Figueiroba, M. V. (2024). *Atividade antimicrobiana de Bacillus subtilis em Fusarium sp., comparando três diferentes métodos (confronto indireto, confronto direto e metabólitos voláteis)* [Tesis para optar el grado de ingeniero agrónomo, Universidad Tecnológica Federal do Paraná]. http://repositorio.utfpr.edu.br:8080/jspui/handle/1/35247

Flores Gracia, J., Madrid González, M., Nodal Moreno, S. A., Flores Gracia, J., Madrid González, M., & Nodal Moreno, S. A. (2023). Uso de *Bacillus* sp. como inductor de resistencia en nopal frente a la 'pudrición escamosa'. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, *14*(1), 25-37. https://doi.org/10.29312/remexca.v14i1.2898

Gómez Velázquez, L. (2016). *Detección de metabolitos bacterianos de tipo auxínico y con actividad antifúngica*. [Tesis de pregrado, Universidad Autónoma de Puebla]. https://repositorioinstitucional.buap.mx/server/api/core/bitstreams/13deeae5-7a3f-4f39-8377-d0f0e24bab9f/content

Gonzales, E. J. G., Liévano, K. S., & Cubillos, D. D. (2020). Evaluación de la efectividad de antagonismo de *Trichoderma sp*. sobre diferentes hongos fitopatógenos presentes en el cultivo de maíz (*Zea mays*). *Ciencias Agropecuarias*, *6*(1), 1-16. https://doi.org/10.36436/24223484.279

Gonzales Lopez, J., & Morales Granados, J. (2007). *Manual técnico aspectos básicos para el cultivo de la mandarina Citrus reticulata*. CORPOICA. https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/13240

Hu, J. (2023). First Report of *Cladosporium ramotenellum*, causing Sooty Spot on Postharvest Clementines in the United States. *Plant Disease*. 107 (10), 3281. https://doi.org/10.1094/PDIS-02-23-0210-PDN

INSST. (2022). *Cladosporium spp, agentes biológicos*. Recuperado de: https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/hongos/cladosporium-spp

INSST. (2022). *Penicillium spp.* Recuperado de: https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/hongos/penicillium-spp

Lagos, J. (2017). *Nuevo desfan 100 desinfectante 100% orgánico bactericida. Viricida, fungicida, amebicida y algicida* Protector Pool. Recuperado de: https://docplayer.es/36696879-Nuevo-desfan-100-desinfectante-100-organico-bactericida-viricida-fungicida-amebicida-y-algicida-distribuidor-autorizado.html.

Lan, Q., Liu, Y., Mu, R., Wang, X., Zhou, Q., Islam, R., Su, X., & Tian, Y. (2024). Efecto de control biológico de bacterias antagonistas sobre la enfermedad de la costra negra de la papa causada por *Rhizoctonia solani*. *Agronomy*, *14*(2), 351. https://doi.org/10.3390/agronomy14020351

Marín Cortez, F. A., Chan-Cupul, W., Buenrostro Nava, M. T., Hernández-Ortega, H. A., Manzo-Sánchez, G., Galindo Velasco, E., Marín Cortez, F. A., Chan-Cupul, W., Buenrostro Nava, M. T., Hernández-Ortega, H. A., Manzo-Sánchez, G., & Galindo Velasco, E. (2019). Control biológico de la roya tardía de la hoja (*Pucciniastrum americanum*) en frambuesa (*Rubus idaeus* L) a través de dos productos biológicos: *Bacillus subtilis* y extracto botánico de *Larrea tridentata* bajo condiciones de malla sombra. *Idesia*, *37*(1), 125-133. https://doi.org/10.4067/S0718-34292019005000504

Martsinkevich, D. I., & Krivorot, A. M. (2015). *Influence of fungicides on supression of fungal infection contamination on apple fruits of Belarusian cultivars during formation period and at long-term storage*. FAO. https://agris.fao.org/search/en/providers/122645/records/6473aa3513d110e4e7a7b03b

Montana. (2024). *Biko*. Recuperado de: https://www.corpmontana.com/p/agricultura/productos-especiales/biko/

Morán Pareja, Z. R. (2023). *Efecto de cuatro desinfectantes de sustratos para el control de hongos que afectan la propagación asexual de cacao (Theobroma cacao L), bajo*

condiciones de vivero. (Tesis para optar el grado de ingeniero agrónomo, Universidad Agraria del Ecuador). https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/MORAN%20PAREJA%20ZE%20ROBERTO.pdf

Murciano, C., Oliver, J., & Orihuel, B. (2022). Identificación del patógeno y control del podrido, *Revista de Citricultura Eureka. 3(2) 44- 57* DOI:10.29328/journal.jpsp.1001059

Noelting, M. C. I., Subelza, L. F., Barca, H. J., & Molina, M. del C. (2025). Eficacia in vitro de fungicidas para el control de *Alternaria alternata* en semillas de amaranto. *SemíArida*, 35(2), 19–31. https://doi.org/10.19137/semiarida.2025(2).19-31

Novalty. (2017) *Jambo*. Recuperado de: https://es-la.facebook.com/photo/?fbid=173303259818918&set=a.136102690205642

Orberá, T. de los M., Serrat, M. de J., & Ortega, E. (2014). *Potential applications of Bacillus subtilis strain SR/B-16 for the control of phytopathogenic fungi in economically relevant crop*s. Biotecnología Aplicada, *31*(1), 7-12. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-28522014000100002

Ordóñez–Valencia, C.; Alarcón, A.; Ferrera–Cerrato, R.; Hernández–Cuevas, L.V. (2018). In vitro antifungal effects of potassium bicarbonate on *Trichoderma* sp. and *Sclerotinia sclerotiorum*. Revista mexicana de fitopatología, 36 (3) 363-378. DOI: https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1803-4

Parrales, Y. R., Cabezas, V. G., Cabezas, M. G., & Alvarado, D. D. (2022). Efeitos da aplicação de difenoconazol e estrobirulinas, isoladamente e em misturas para o controlo da ferrugem (*Phakopsora pachyrhizi*) na cultura da soja. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research, 5*(2), 1947-1962. https://doi.org/10.34188/bjaerv5n2-039

Procitrus. (2021). *Guía de recomendaciones para el manejo integrado de Cladosporium sp "moho pulverulento" en los cítricos*. Recuperado de: https://www.procitrus.org/img-apps/info-notas/infonotas-1612278918.pdf

Quintero, L., Castañeda, M., Atehortua, J., & Torres, L. (2022). *Ficha cladosporium micotoxinas.* Scribd. Recupero de: https://es.scribd.com/document/462078471/Ficha-*Cladosporium*

Quiñones Pezo, L. C. (2022). *Actividad inhibitoria in vitro de metabolitos secundarios de Bacillus spp. Y Burkholderia vietnamiensis sobre Rhizoctonia sp*. [Tesis de grado, Universidad Nacional de San Martin]. http://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/4368

Palou, L., & Montesinos-Herrero, C. (2015). *Uso de fungicidas en poscosecha de frutos cítricos*. *Horticultura*. Recuperado de https://redivia.gva.es/handle/20.500.11939/3932

Redagrícola (2020, 19 de febrero). *Estrategias para el control de mancha marrón provocada por Cladosporium*. Recuperado de: https://redagricola.com/estrategias-para-el-control-de-mancha-marron-provocada-por-cladosporium/

Redagrícola (2022, 21 de febrero). *Cladosporium, dos especies activan las alertas*. Recuperado de: https://redagricola.com/cladosporium-dos-especies-activan-las-alertas/

Salas, M. M. (2023). *Caracterización de metabolitos antifúngicos de* Bacillus sp. *IG1244 para el control de* Colletotrichum spp. *[Tesis de maestría, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.]*. https://ciad.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1006/1598

Sá, M. N. F. de, Lima, J. de S., Jesus, F. N. de, Perez, J. O., & Gava, C. A. T. (2022). Seleção in vitro de agentes de biocontrole visando o controle de *Fusarium* sp. Biblioteca de Artigos de Revistas. 3(1), 14-16. http://dx.doi.org/10.22571/10.22571/2526-4338157

Sandoval-Chávez, R. A., Martínez-Peniche, R. Á., Hernández-Iturriaga, M., Fernández-Escartín, E., Arvizu-Medrano, S., & Soto-Muñoz, L. (2011). Control biológico y químico contra Fusarium stilboides en pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) en poscosecha. *Revista Chapingo, serie horticultura*, 17(2), 161-172. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2011000200009

Sempere-Ferre, F., Asamar, J., Castell, V., Roselló, J., & Santamarina, M. P. (2021). Evaluating the antifungal potential of botanical compounds to control *Botryotinia fuckeliana* and *Rhizoctonia solani*. *Molecules, 26*(9), 2472. https://doi.org/10.3390/molecules26092472

Sukhoruchenko, G. I., Ivanova, G. P., Krasavina, L. P., Kozlova, E. G., & Trapeznikova, O. V. (2021). Effects of Luna Tranquility Fungicide on Arthropod Pests and Predatory Mites in Protected Grounds. *Entomological Review*, *101*(3), 287-298. https://doi.org/10.1134/S0013873821030015

SUMMIT AGRO. (2022). *Nacillus pro*. Recuperado de: https://summit-agro.com/cl/es/producto/nacillus-pro/

Syngenta. (2017, enero 9). *Timorex gold*. Recuperado de: https://www.syngenta.com.mx/product/crop-protection/fungicida/timorex-gold

Tarazona Mateus, S. L., & Vacca Pinilla, A. M. (2023). *Evaluación de la aplicación foliar de extractos vegetales y biológicos para el control de enfermedades en soja (Glycine max L.) en la Universidad de los Llanos, Granja Barcelona, Villavicencio* [Trabajo de grado, Universidad de los Llanos]. https://repositorio.unillanos.edu.co/handle/001/4316

Técnicoagrícola. (2013, 11 de marzo). *Cladosporium herbarum en citricos.* Recuperado de: https://www.tecnicoagricola.es/cladosporium-herbarum-en-citricos/

TQC. (2020). *Score 250 EC.* Recuperado de: https://www.tqc.com.pe/producto/score-250-ec/

Valenzuela-Quintero, G., Ortega-Nieblas, M. M., Burboa-Zazueta, M. G., Gutiérrez-Millán, L. E., López-Córdova, J. P., Rentería-Martínez, M. E., Jiménez-León, J., Curlango-Rivera, G., Guerrero-Ruíz, J. C., Valenzuela-Quintero, G., Ortega-Nieblas, M. M., Burboa-Zazueta, M. G., Gutiérrez-Millán, L. E., López-Córdova, J. P., Rentería-Martínez, M. E., Jiménez-León, J., Curlango-Rivera, G., & Guerrero-Ruíz, J. C. (2023). Actividad antifúngica del aceite esencial y extracto acuoso del orégano *Lippia palmeri* W. sobre *Fusarium oxysporum* y *Thanatephorus* sp. *Biotecnia*. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-14562023000200153

Vilardell, Vilajeliu y Cabrefiga (2019) *Los LMR's frente a 'Residuo cero' en fruta dulce*. Phytoma. Recuperado de: https://www.phytoma.com/images/pdf/2019/313_fitos_LMR_fruta_dulce.pdf

Zhao, H., Shao, D., Jiang, C., Shi, J., Li, Q., Huang, Q., Jin, M. (2017). Actividad biológica de los lipopéptidos de *Bacillus*. *Researchgate* 101(15):1-10 doi: 10.1007/s00253-017-8396-0

X. ANEXO

Anexo 1 *Matriz de consistencia.*

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	VARIABLES	INDICADOR	ÍNDICE	MÉTODOS
Problema general ¿Cuál será la eficacia *in vitro* de fungicidas residuo cero sobre el control de *Cladosporium ramotenellum* especie, asociada a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*)?	Objetivo general Evaluar la eficacia *in vitro* de fungicidas residuo cero sobre el control de *C. ramotenellum* especie, asociada a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*).	Hipótesis general ¿Existirá eficacia *in vitro* de fungicidas residuo cero sobre el control *Cladosporium ramotenellum* especie, asociada a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*)?	V. independiente Aplicación de 22 fungicidas residuos cero.	gr/lt ml/lt	T0: Testigo T1, T2...T22	Tipo de investigación En cuanto a su objetivo planteado es de tipo experimental, porque se manipularían las v. independientes: tipos de fungicidas residuo cero, para ver su efecto en la variable dependiente: - Porcentaje de inhibición micelial de *C. ramotenellum* en presencia de los extractos vegetales y productos orgánicos. - Porcentaje de inhibición micelial de *C. ramotenellum* en presencia de los productos químicos. - Porcentaje de inhibición micelial de *C. ramotenellum* en presencia de los productos biológicos. Nivel de investigación: • Es explicativo • DCA
Problema específico. ¿Cuál será la eficacia *in vitro* de extractos vegetales y productos orgánicos residuo cero sobre el control de *C. ramotenellum* especie asociada a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*)?	Objetivo específico Evaluar la eficacia *in vitro* de extractos vegetales y productos orgánicos residuo cero sobre el control de *C. ramotenellum* especie asociada a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*).	Hipótesis especifico. Existirá eficacia *in vitro* de extractos vegetales y productos orgánicos residuo cero sobre el control de *C. ramotenellum* especie asociada a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*).	V. dependiente Porcentaje de inhibición micelial de *C. ramotenellum* en presencia de los extractos vegetales y productos orgánicos.	Medición del diámetro de las colonias.	(mm) %	
¿Cuál será la eficacia *in vitro* de productos químicos sobre el control de *C. ramotenellum* especie asociada a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*)?	Evaluar la eficacia *in vitro* de productos químicos sobre el control de *C. ramotenellum* especie asociada a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*).	Existirá eficacia *in vitro* de productos químicos sobre el control de *C. ramotenellum* especie asociada a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*).	Porcentaje de inhibición micelial de *C. ramotenellum* en presencia de los productos químicos.	Medición del diámetro de las colonias.	(mm) %	
¿Cuál será la eficacia *in vitro* productos biológicos residuo cero sobre el control de *C. ramotenellum* especie asociada a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*)?	Evaluar la eficacia *in vitro* de productos biológicos residuo cero sobre el control de *C. ramotenellum* especie asociada a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*).	Existirá eficacia *in vitro* de productos biológicos residuo cero sobre el control de *C. ramotenellum* especie asociada a la "mancha de hollín" en mandarina (*Citrus reticulata*).	Porcentaje de inhibición micelial de *C. ramotenellum* en presencia de los productos biológicos.	Medición del diámetro de las colonias.	(mm) %	

Anexo 2 *Ubicación del proyecto de investigación*



Anexo 3 *Evaluaciones del crecimiento micelial (mm).*

CATEGORÍA	Trt	REP	2DDA	4DDA	6DDA	8DDA	10DDA	12DDA	14DDA	16DDA	18DDA	20DDA
E. vegetales	T0	1	4.82	10.60	17.33	23.89	30.25	37.26	44.31	51.44	58.56	65.89
E. vegetales	T0	2	4.52	9.89	16.25	22.78	29.56	36.78	44.19	51.42	58.75	66.10
E. vegetales	T0	3	4.42	9.95	15.98	22.68	29.10	36.25	43.54	50.74	57.92	65.04
Biológico	T1	1	3.20	6.89	8.15	9.60	10.10	10.60	10.97	11.30	11.86	13.70
Biológico	T1	2	2.89	6.45	9.20	10.50	11.15	12.00	12.64	13.25	14.05	15.10
Biológico	T1	3	3.25	6.05	7.80	9.20	9.80	10.30	10.74	11.36	12.36	13.42
Biológico	T2	1	1.00	1.76	2.34	2.67	3.02	3.45	3.77	4.23	4.74	5.00
Biológico	T2	2	1.20	1.82	2.36	2.73	3.06	3.49	3.77	4.18	4.78	5.36
Biológico	T2	3	0.97	1.52	2.25	2.59	2.88	3.25	3.45	3.95	4.83	6.00
Biológico	T3	1	1.12	1.65	2.20	2.53	2.90	3.70	4.60	5.62	6.82	8.10
Biológico	T3	2	1.00	1.50	2.00	2.48	2.95	3.65	4.61	5.57	6.45	7.32
Biológico	T3	3	0.95	1.40	1.96	2.36	2.84	3.45	4.52	5.69	6.84	8.00
Biológico	T4	1	4.63	10.05	14.78	17.30	18.10	18.10	18.10	18.10	18.10	0.00
Biológico	T4	2	4.05	8.40	13.02	14.96	16.10	16.10	16.10	16.10	16.10	0.00
Biológico	T4	3	4.38	9.56	15.39	17.62	19.30	19.30	19.30	19.30	19.30	0.00
E. vegetales	T5	1	4.10	8.15	12.40	15.74	18.80	20.10	22.05	24.00	25.98	28.00
E. vegetales	T5	2	3.55	7.32	11.74	14.05	16.50	18.23	20.10	22.01	24.21	26.50
E. vegetales	T5	3	3.76	7.56	11.36	14.72	17.60	19.24	20.80	22.54	24.74	27.40
E. vegetales	T6	1	4.05	9.00	11.50	13.95	16.35	17.62	18.92	20.40	22.05	23.95
E. vegetales	T6	2	4.32	9.02	11.80	14.02	16.32	17.63	19.08	20.28	21.78	23.74
E. vegetales	T6	3	3.98	8.86	11.20	13.56	15.68	17.05	18.25	19.72	21.35	23.40
E. vegetales	T7	1	2.00	3.80	4.98	5.51	6.53	7.48	8.42	9.25	9.62	10.00
E. vegetales	T7	2	1.20	2.41	3.62	4.30	5.36	6.32	7.28	8.02	8.46	8.90
E. vegetales	T7	3	1.10	2.38	3.55	4.56	5.61	6.58	7.53	8.32	8.74	9.40

CATEGORÍA	Trt	REP	2DDA	4DDA	6DDA	8DDA	10DDA	12DDA	14DDA	16DDA	18DDA	20DDA	20DD
E. vegetales	T8	1	3.56	7.56	10.20	11.35	12.36	13.32	14.28	15.50	17.12	19.00	19
E. vegetales	T8	2	4.12	8.45	10.74	12.06	13.15	14.16	15.11	16.23	18.25	20.10	20.86
E. vegetales	T8	3	3.82	7.88	9.85	10.89	11.95	13.05	14.16	15.24	16.75	18.60	17.45
E. vegetales	T9	1	3.84	7.85	11.42	14.72	17.41	18.96	19.65	20.15	20.48	21.00	21.02
E. vegetales	T9	2	3.30	7.32	11.25	14.37	17.35	18.45	19.58	20.55	21.36	22.08	23.52
E. vegetales	T9	3	3.10	7.26	11.13	14.28	17.24	18.32	19.56	20.40	21.32	22.10	21.87
E. vegetales	T10	1	3.25	6.48	9.51	12.36	15.01	17.32	18.84	20.16	21.48	23.20	22.2
E. vegetales	T10	2	3.84	7.15	11.06	14.72	18.02	19.76	20.60	21.56	22.52	23.40	23.89
E. vegetales	T10	3	4.21	8.24	12.15	16.00	18.62	20.16	22.07	23.45	24.80	26.10	26.1
E. vegetales	T11	1	3.62	8.50	13.10	17.26	19.15	21.00	22.40	24.00	26.53	30.00	30.62
E. vegetales	T11	2	3.48	7.80	11.30	15.23	17.65	19.50	20.80	22.60	25.06	28.30	27.95
E. vegetales	T11	3	3.55	8.10	12.20	16.32	18.84	20.80	21.30	23.20	25.82	29.10	29.1
E. vegetales	T12	1	3.60	5.52	6.85	8.20	9.70	11.00	12.60	14.26	15.90	17.70	16.74
E. vegetales	T12	2	4.41	5.96	7.11	9.00	10.92	12.40	13.80	15.62	17.40	19.10	20.32
E. vegetales	T12	3	4.30	5.26	6.47	8.42	9.76	11.07	12.95	14.83	16.74	18.40	18.4
Orgánico	T13	1	3.05	5.50	7.50	10.53	13.74	16.84	20.36	24.16	28.13	32.00	29.63
Orgánico	T13	2	2.70	5.30	7.20	10.36	13.36	16.42	19.74	23.46	27.32	31.50	32.82
Orgánico	T13	3	2.24	5.10	6.40	9.88	12.52	15.23	18.96	22.75	26.73	30.17	31.03
Orgánico	T14	1	2.01	3.12	5.26	7.56	11.02	14.58	17.74	21.56	24.76	28.10	29.72
Orgánico	T14	2	1.15	2.32	4.47	6.98	9.92	13.62	16.82	19.96	23.01	26.40	25.46
Orgánico	T14	3	1.62	2.82	4.98	7.11	11.08	14.82	18.03	21.35	24.38	27.47	27.47
Biológico	T15	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Biológico	T15	2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Biológico	T15	3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

CATEGORÍA	Trt	REP	2DDA	4DDA	6DDA	8DDA	10DDA	12DDA	14DDA	16DDA	18DDA	20DDA	20DD
Biológico	T16	1	0.00	0.02	0.42	0.96	1.55	2.44	3.52	4.68	6.20	8.00	8.62
Biológico	T16	2	0.00	0.00	0.38	0.81	1.37	2.11	3.18	4.22	5.90	7.00	6.94
Biológico	T16	3	0.00	0.00	0.37	0.74	1.26	2.04	3.07	4.19	5.26	6.40	5.78
Orgánico	T17	1	1.15	2.62	4.78	7.18	9.78	12.56	15.36	18.96	22.15	26.40	25.82
Orgánico	T17	2	1.50	2.98	5.18	7.52	10.15	13.02	15.85	19.32	22.63	27.10	27.1
Orgánico	T17	3	1.89	3.25	5.56	7.83	10.47	13.15	15.96	19.84	23.89	28.00	28.63
Biológico	T18	1	3.40	6.52	8.84	9.47	10.25	10.97	11.59	12.41	13.41	14.82	13.89
Biológico	T18	2	3.70	7.63	9.11	10.01	10.59	11.01	11.62	12.80	14.20	15.70	15.23
Biológico	T18	3	3.80	8.59	9.84	10.57	11.08	11.85	12.32	13.36	14.90	16.40	16.4
Biológico	T19	1	1.50	2.80	3.95	5.18	6.14	7.01	7.84	8.47	8.87	9.20	9.2
Biológico	T19	2	1.98	3.21	4.37	5.52	6.43	7.15	7.97	8.86	9.82	10.80	11.56
Biológico	T19	3	1.80	3.36	4.53	5.78	6.71	7.36	8.03	8.67	9.15	9.70	9.88
Químico	T20	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Químico	T20	2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Químico	T20	3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Químico	T21	1	0.00	0.00	0.00	0.30	0.81	1.50	2.31	3.11	3.85	4.82	4.82
Químico	T21	2	0.00	0.00	0.00	0.35	0.87	1.47	2.14	3.04	4.15	5.26	6.84
Químico	T21	3	0.00	0.00	0.00	0.20	0.74	1.36	2.05	2.98	3.95	5.10	5.62
Biológico	T22	1	4.00	7.60	9.89	12.03	13.15	14.32	15.21	16.08	17.03	18.53	18.13
Biológico	T22	2	3.70	8.10	10.26	12.45	13.63	14.92	15.76	16.47	17.65	19.47	19.76
Biológico	T22	3	3.50	8.00	10.15	12.38	13.55	14.62	15.46	16.19	17.38	19.36	19.01

CATEGORÍA	Trt	2DDA	4DDA	6DDA	8DDA	10DDA	12DDA	14DDA	16DDA	18DDA	20DDA
Biológico	T0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Biológico	T0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Biológico	T0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Biológico	T1	33.61	35.00	52.97	59.82	66.61	71.55	75.24	78.03	79.75	78.46
Biológico	T1	36.06	34.78	43.38	53.91	62.28	67.37	71.40	74.23	76.09	75.78
Biológico	T1	26.47	39.20	51.19	59.44	66.32	71.59	75.33	77.61	78.66	79.24
Biológico	T2	79.25	83.40	86.50	88.82	90.02	90.74	91.49	91.78	91.91	92.48
Biológico	T2	73.45	81.60	85.48	88.02	89.65	90.51	91.47	91.87	91.86	92.30
Biológico	T2	78.05	84.72	85.92	88.58	90.10	91.03	92.08	92.22	91.66	90.40
Biológico	T3	76.76	84.43	87.31	89.41	90.41	90.07	89.62	89.07	88.35	88.40
Biológico	T3	77.88	84.83	87.69	89.11	90.02	90.08	89.57	89.17	89.02	89.80
Biológico	T3	78.51	85.93	87.73	89.59	90.24	90.48	89.62	88.79	88.19	87.01
Biológico	T4	3.94	5.19	14.71	27.58	40.17	51.42	100.00	100.00	100.00	72.56
Biológico	T4	10.40	15.07	19.88	34.33	45.53	56.23	100.00	100.00	100.00	76.34
Biológico	T4	0.90	3.92	3.69	22.31	33.68	46.76	100.00	100.00	100.00	70.01
E. vegetales	T5	14.94	23.11	28.45	34.11	37.85	46.05	50.24	53.34	55.64	57.23
E. vegetales	T5	21.46	25.99	27.75	38.32	44.18	50.44	54.51	57.20	58.79	62.30
E. vegetales	T5	14.93	24.02	28.91	35.10	39.52	46.92	52.23	55.58	57.29	57.43
E. vegetales	T6	15.98	15.09	33.64	41.61	45.95	52.71	57.30	60.34	62.35	62.77
E. vegetales	T6	4.42	8.80	27.38	38.45	44.79	52.07	56.82	60.56	62.93	65.11
E. vegetales	T6	9.95	10.95	29.91	40.21	46.12	52.97	58.08	61.14	63.14	64.78
E. vegetales	T7	58.51	64.15	71.26	76.94	78.41	79.92	81.00	82.02	83.57	84.84
E. vegetales	T7	73.45	75.63	77.72	81.12	81.87	82.82	83.53	84.40	85.60	87.33
E. vegetales	T7	75.11	76.08	77.78	79.89	80.72	81.85	82.71	83.60	84.91	85.16

Anexo 4 *Datos del porcentaje de inhibición micelial de Cladosporium ramotenellum*

CATEGORÍA	Trt	2DDA	4DDA	6DDA	8DDA	10DDA	12DDA	14DDA	16DDA	18DDA	20DDA
E. vegetales	T8	26.14	28.68	41.14	52.49	59.14	64.25	67.77	69.87	70.77	71.19
E. vegetales	T8	8.85	14.56	33.91	47.06	55.51	61.50	65.81	68.44	68.94	69.34
E. vegetales	T8	13.57	20.80	38.36	51.98	58.92	64.00	67.48	69.96	71.08	72.89
E. vegetales	T9	20.33	25.94	34.10	38.38	42.45	49.11	55.65	60.83	65.03	68.13
E. vegetales	T9	26.99	25.99	30.77	36.92	41.31	49.84	55.69	60.04	63.64	65.43
E. vegetales	T9	29.86	27.04	30.35	37.02	40.76	49.46	55.08	59.80	63.19	66.02
E. vegetales	T10	32.57	38.87	45.12	48.26	50.38	53.52	57.48	60.81	63.32	66.34
E. vegetales	T10	15.04	27.70	31.94	35.38	39.04	46.28	53.38	58.07	61.67	64.89
E. vegetales	T10	4.75	17.19	23.97	29.45	36.01	44.39	49.31	53.78	57.18	59.45
E. vegetales	T11	24.90	19.81	24.41	27.75	36.69	43.64	49.45	53.34	54.70	53.58
E. vegetales	T11	23.01	21.13	30.46	33.14	40.29	46.98	52.93	56.05	57.34	58.92
E. vegetales	T11	19.68	18.59	23.65	28.04	35.26	42.62	51.08	54.28	55.42	54.79
E. vegetales	T12	25.31	47.92	60.47	65.68	67.93	70.48	71.56	72.28	72.85	74.62
E. vegetales	T12	2.43	39.74	56.25	60.49	63.06	66.29	68.77	69.62	70.38	70.14
E. vegetales	T12	2.65	47.14	59.51	62.87	66.46	69.46	70.26	70.77	71.10	71.41
Orgánico	T13	36.72	48.11	56.72	55.92	54.58	54.80	54.05	53.03	51.96	55.08
Orgánico	T13	40.27	46.41	55.69	54.52	54.80	55.36	55.33	54.38	53.50	51.76
Orgánico	T13	49.32	48.74	59.95	56.44	56.98	57.99	56.45	55.16	53.85	51.79
Orgánico	T14	58.30	70.57	69.65	68.35	63.57	60.87	59.96	58.09	57.72	54.94
Orgánico	T14	74.56	76.54	72.49	69.36	66.44	62.97	61.94	61.18	60.83	62.58
Orgánico	T14	63.35	71.66	68.84	68.65	61.92	59.12	58.59	57.92	57.91	57.32
Biológico	T15	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Biológico	T15	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Biológico	T15	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

CATEGORÍA	Trt	2DDA	4DDA	6DDA	8DDA	10DDA	12DDA	14DDA	16DDA	18DDA	20DDA
E. vegetales	T8	26.14	28.68	41.14	52.49	59.14	64.25	67.77	69.87	70.77	71.19
E. vegetales	T8	8.85	14.56	33.91	47.06	55.51	61.50	65.81	68.44	68.94	69.34
E. vegetales	T8	13.57	20.80	38.36	51.98	58.92	64.00	67.48	69.96	71.08	72.89
E. vegetales	T9	20.33	25.94	34.10	38.38	42.45	49.11	55.65	60.83	65.03	68.13
E. vegetales	T9	26.99	25.99	30.77	36.92	41.31	49.84	55.69	60.04	63.64	65.43
E. vegetales	T9	29.86	27.04	30.35	37.02	40.76	49.46	55.08	59.80	63.19	66.02
E. vegetales	T10	32.57	38.87	45.12	48.26	50.38	53.52	57.48	60.81	63.32	66.34
E. vegetales	T10	15.04	27.70	31.94	35.38	39.04	46.28	53.38	58.07	61.67	64.89
E. vegetales	T10	4.75	17.19	23.97	29.45	36.01	44.39	49.31	53.78	57.18	59.45
E. vegetales	T11	24.90	19.81	24.41	27.75	36.69	43.64	49.45	53.34	54.70	53.58
E. vegetales	T11	23.01	21.13	30.46	33.14	40.29	46.98	52.93	56.05	57.34	58.92
E. vegetales	T11	19.68	18.59	23.65	28.04	35.26	42.62	51.08	54.28	55.42	54.79
E. vegetales	T12	25.31	47.92	60.47	65.68	67.93	70.48	71.56	72.28	72.85	74.62
E. vegetales	T12	2.43	39.74	56.25	60.49	63.06	66.29	68.77	69.62	70.38	70.14
E. vegetales	T12	2.65	47.14	59.51	62.87	66.46	69.46	70.26	70.77	71.10	71.41
Orgánico	T13	36.72	48.11	56.72	55.92	54.58	54.80	54.05	53.03	51.96	55.08
Orgánico	T13	40.27	46.41	55.69	54.52	54.80	55.36	55.33	54.38	53.50	51.76
Orgánico	T13	49.32	48.74	59.95	56.44	56.98	57.99	56.45	55.16	53.85	51.79
Orgánico	T14	58.30	70.57	69.65	68.35	63.57	60.87	59.96	58.09	57.72	54.94
Orgánico	T14	74.56	76.54	72.49	69.36	66.44	62.97	61.94	61.18	60.83	62.58
Orgánico	T14	63.35	71.66	68.84	68.65	61.92	59.12	58.59	57.92	57.91	57.32

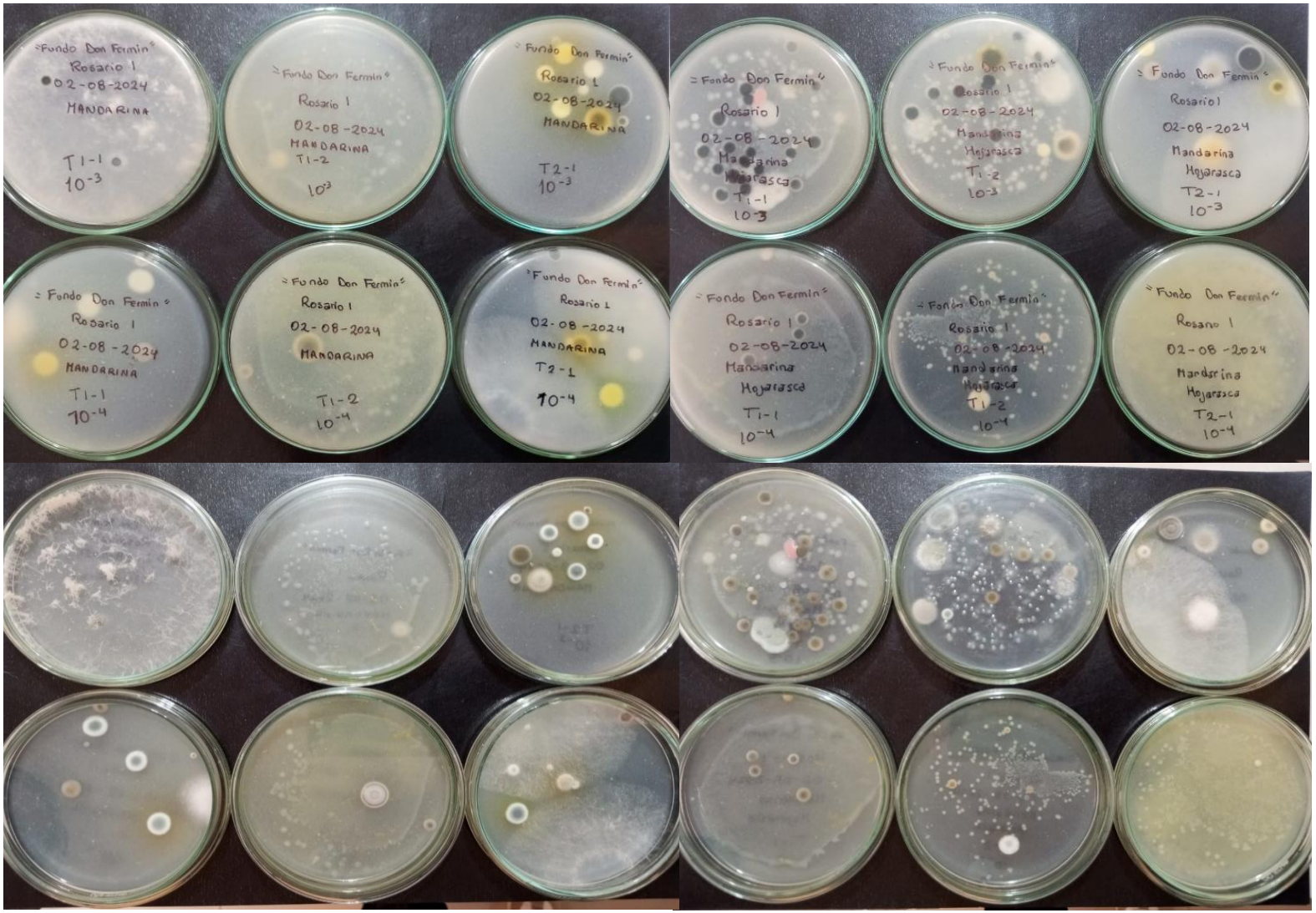
Anexo 5 *Recolección de muestras*



Anexo 6 *Diluciones seriadas – Siembra del patógeno*



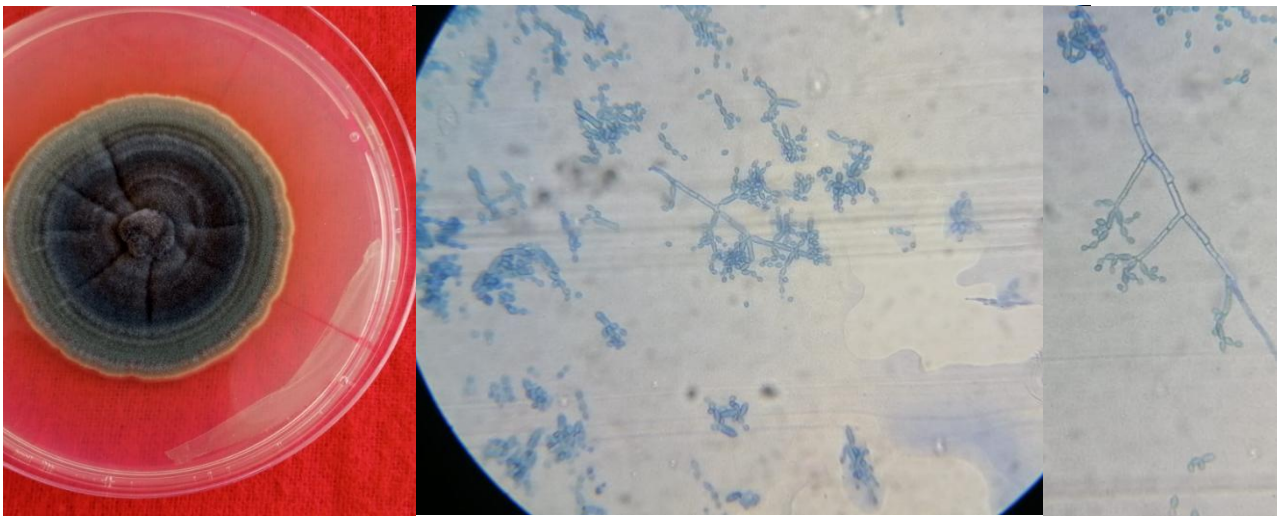
Anexo 7 *Resultados de la incubación de muestra*



Anexo 8 *Repique y siembra del patógeno*



Anexo 9 *Montaje de las muestras en el microscopio.*



Anexo 10 *Identificación mediante secuenciación genómica.*

Aislar	Gene	Secuencia amplificada
1	**ACTO**	5'CGTAAGTCCCAAAACGCCCGCTCTTCTCGCAGCCCGACGGCCAGCTGACAACATCCTAGCTTCCATTG TCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCTCCTTGCCCTCCCCACCACCGCCGAATCCAATGTCTAACC-3'
	EF-1α	5'TCACTTCTTCGCCCCGCCATGACACCCCGCCTCGTCGCAATCAGCGATAAGGCGACACGGCTTGGCTTG GCGGAGACTTGCTTTCGGTTGAAGACACCACGCCACCATCATCACCCACCTTGTCCACATCACTGACAACC ATCACAG-3'
	ITS1-5S-ITS2-28S	5'ATAACCCTTTGTTGTCCGACTCTGTTGCCTCCGGGGCGACCCTGCCTTCGGGCGGGGGCTCCGGGTGGA CACTTCAAACTCTTGCGTAACTTTGCAGTCTGAGTAAACTTAATTAATAAATTAAAACTTTTAACAACGGATCT CTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCA TCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCACCA CTCAAGCCTCGCTTGGTATTGGGCAACGCGGTCCGCCGCGTGCCTCAAACCGTCCGGCTGGGTCTTCTGT CCCCTAAGCGTTGTGGAAACTATTCGCTAAAGGGTGTTCGGGAGGCTACGCCGTAAAACAACCCCATTTCT AAGGT-3'
2	**ACTO**	5'ATGTGCAAGGCCGGTTTCGCCGGTGACGATGCGCCCAGAGCCGTTTTCCGTAAGTCCCAAAACGCCCGC TTCTCTCGGAGCCCGACGGCCAGCTGACAACATCCTAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGG TATGCTCTCCTTGCCCTCCCCACCACCGCCGAATCCAATGTCTAACCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTAT GGGCCAGAAGGACTCGTAATCAATCAATC-3'
	EF-1α	5'GTCATCGAGAAGTTCGAGAAGGTGAGCACTCTCCCGGCAACTCGCTGTCTTTTCATCGCTGCAATCTCTT CTTCGCCCCGCCACGACACCCCGCCTCGTCGCAATCCGCGATAAGGCTACAGTGCTTGGCGGAGA CTTGCTCNCGACTGATGACAGCACGCCACCATCAACACCCACCTTGACCACATCACTGACAGTCATCACAG GAAGCCGCCGAGCTCGGTAAGGGTTCCTTCAAGTAA-3'
	ITS1-5S-ITS2-28S	5'CCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTACTACCGATTGAATGGCTCGGTGAGGCCTTCGGACTGGCCCAGG GAGGTCGGCAACGACCACCCAGGGCCGGAAAGTTGGTCAAACCCGGTCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGT AACAAGGTCTCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACAAGTGACCCCGGCTACGGCCGGGATGTTCA TAACCCTTTGTTGTCCGACTCTGTTGCCTCCGGGGCGACCCTGCCTTCGGGCGGGGGCTCCGGGTGGACA CTTCAAACTCTTGCGTAACTTTGCAGTCTGAGTAAACTTAATTAATAAATTAAAACTTTTAACAACGGATCTCT \TGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATC GAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCACCACT CAAGCCTCGCTTGGTATTGGGCAACGCGGTCCGCCGCGTGCCTCAAATCGTCCGGCTGGGTCTTCTGTCC CCTAAGCGTTGTGGAAACTATTCGCTAAAGGGTGTTCGGGAGGCTACGCCGTAAAACAACCCCATTTCTAA GGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAA CAGGGATTGCTCTAGTAACGGCGAGTGAAGCAGCAATAGCTCAAATTTGAAATCTGGCGTCTTCGACGTCC GAGTTGTAATTTGTAGAGGATGCTTCTGAGTGGCCACCGACCTAAGTTCCTTGGAACAGGACGTCATAGAG GGTGAGAATCCCGTATGCGGTCGGAAAGGCGCTCTATACGTAGCTCCTTCGACGAGTCGAGTTGTTTGGG AATGCAGCTCTAAATGGGAGGTAAATTTCTTCTAAAGCTAAATATTGGCCAGAGACCGATAGCGCACAAGTA GAGTGATCGAAAGATGAAAAGCACTTTGGAAAGAGAGTTAAAAAGCACGTGAAATTGTTAAAAGGGAAGGG ATTGCAACCAGACTTGCTCGCGGTGTTCCGCCGGTCTTCTGACCGGTCTACTCGCCGCGTTGCAGGCCAG CATCGTCTGGTGCCGCTGGATAAGACTTGAGGAATGTAGCTCCCTCGGGAGTGTTATAGCCTCTTGTGATG CAGCGAGCGCCGGGCGAGGTCCGCGCTTCGGCTAGGATGCTGGCGTAATGGTCGTAATCCGCCCGTCTT GAAACACGGACCAAGGAGTCTAACATCTATGCGAGTGTTCGGGTGTCAAACCCCTACGCGTAATGAAAGTG AACGGAGGTGAGAACCGCAAGGTGCATCATCGACCGATCCTGATGTCTTCGGATGGATTTGAGTAAGAGCA TAGCTGTTGGGACCCGAAAGATGGTGAACTATGCCTGAATAGGGTGAAGCCAGAGGAAACTCTGGTGGAG GCTCGCAGCGGTTCTGACGTGCAAATCGATCGTCAAATTTGGGTATAGGGGCGAA-3'

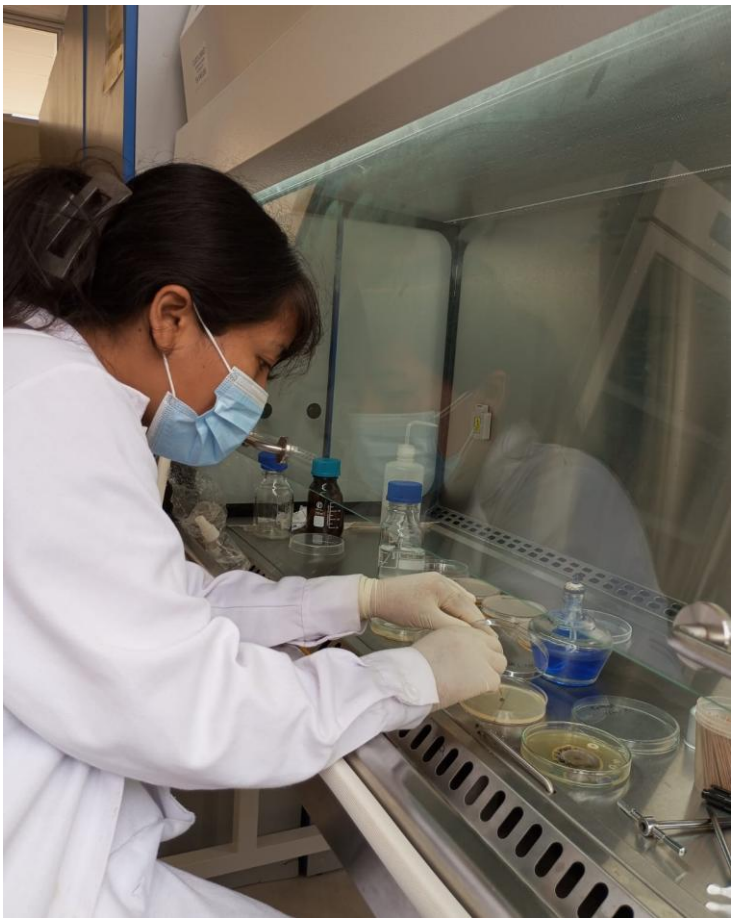
Anexo 11 Dosificación de los fungicidas



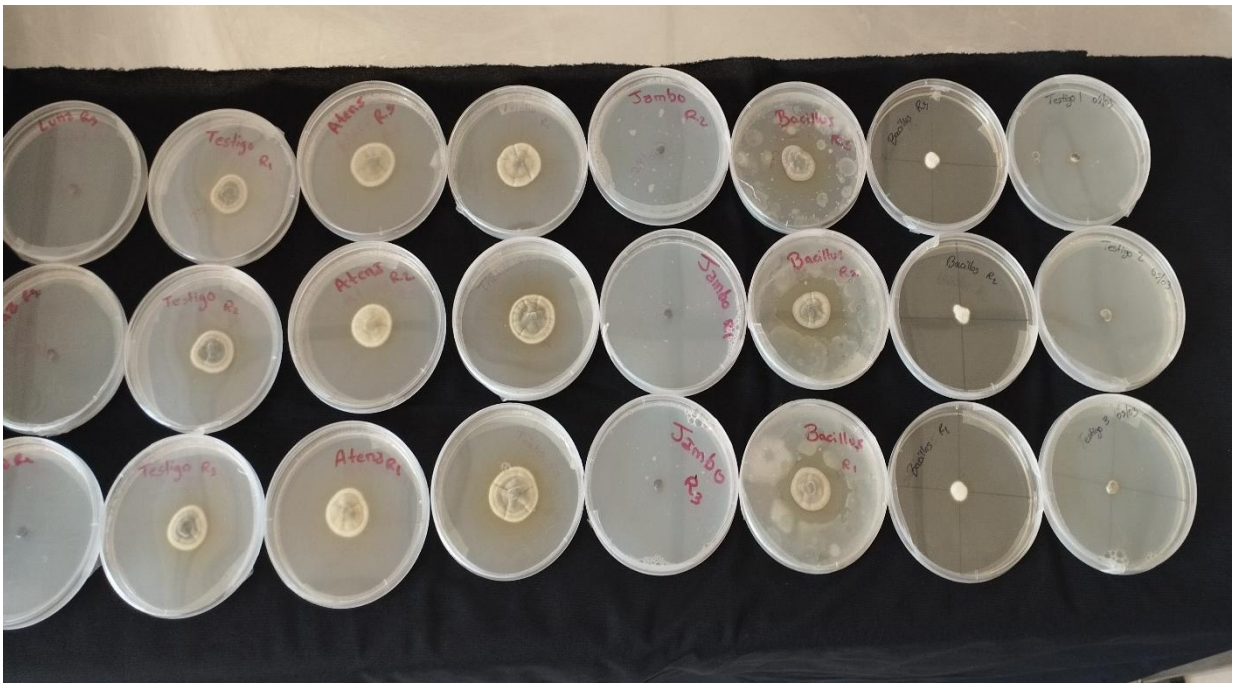
Anexo 12 Plaqueo del alimento envenenado



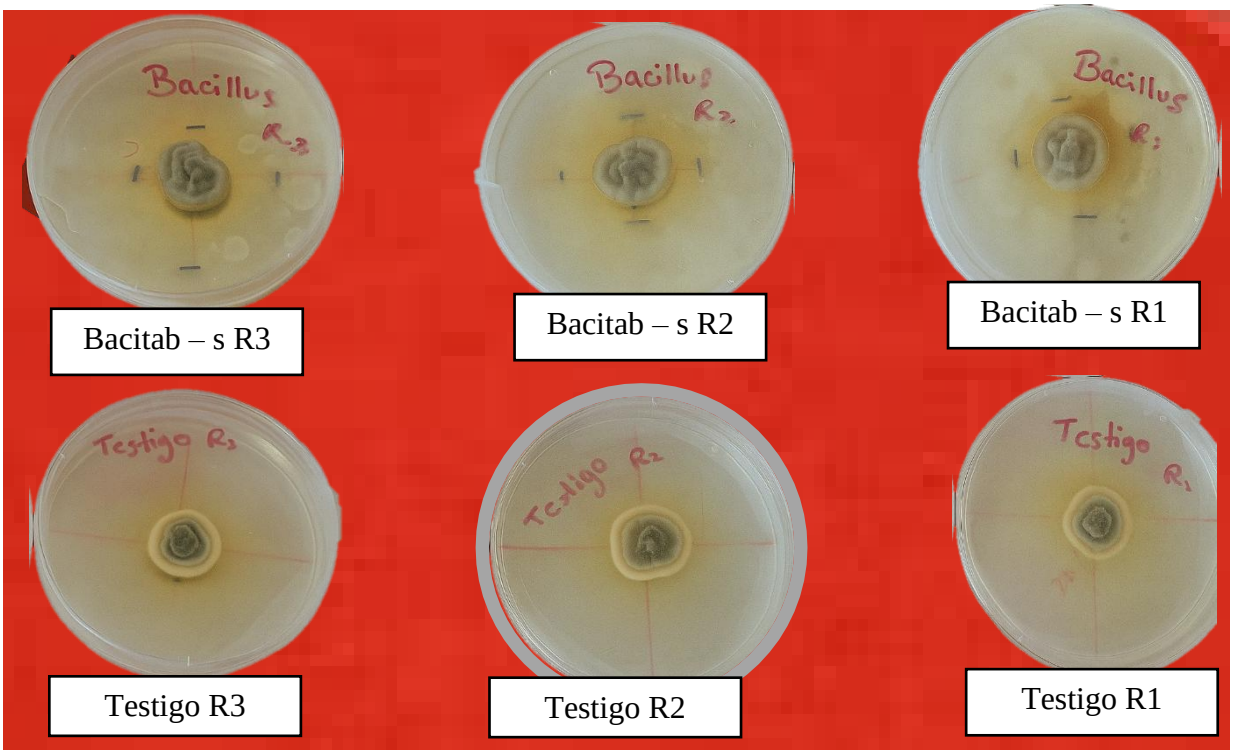
Anexo 13 *Siembra de disco del patógeno en placas con alimento envenenado*



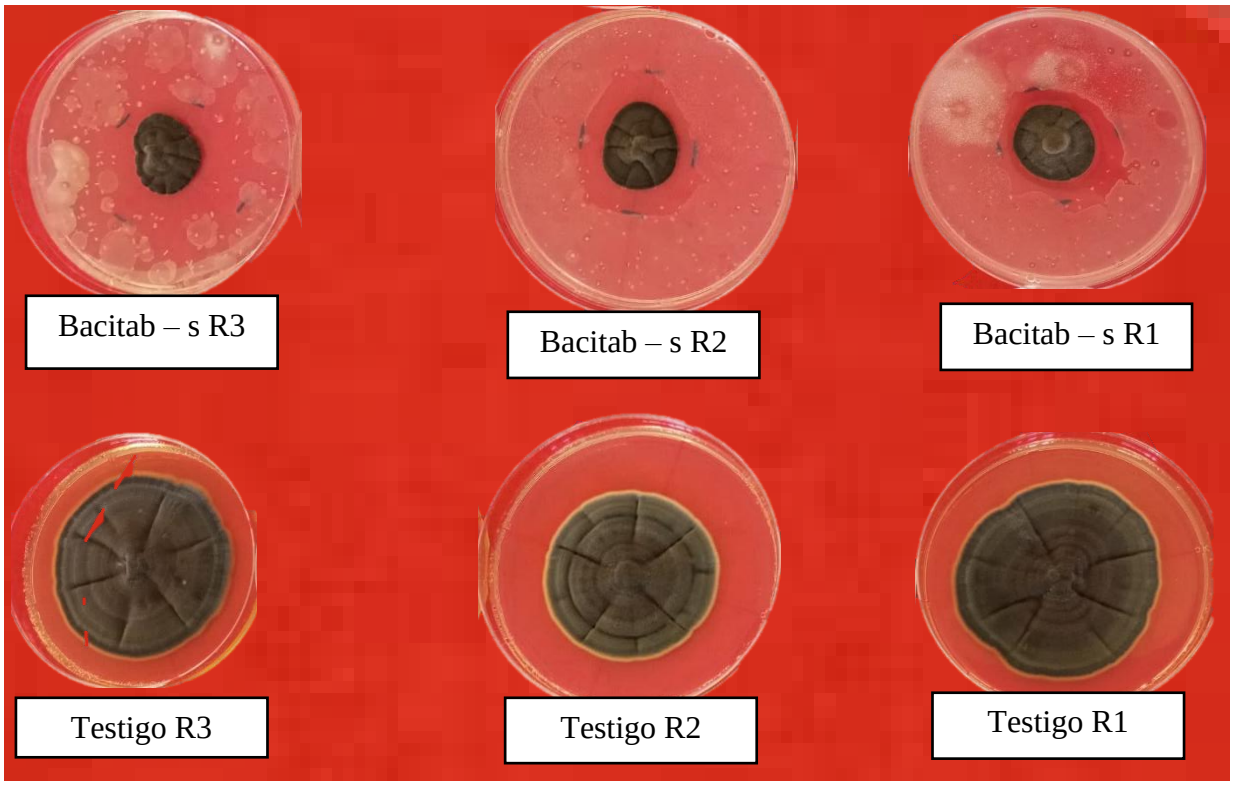
Anexo 14 *Crecimiento del patógeno en medio envenenado*



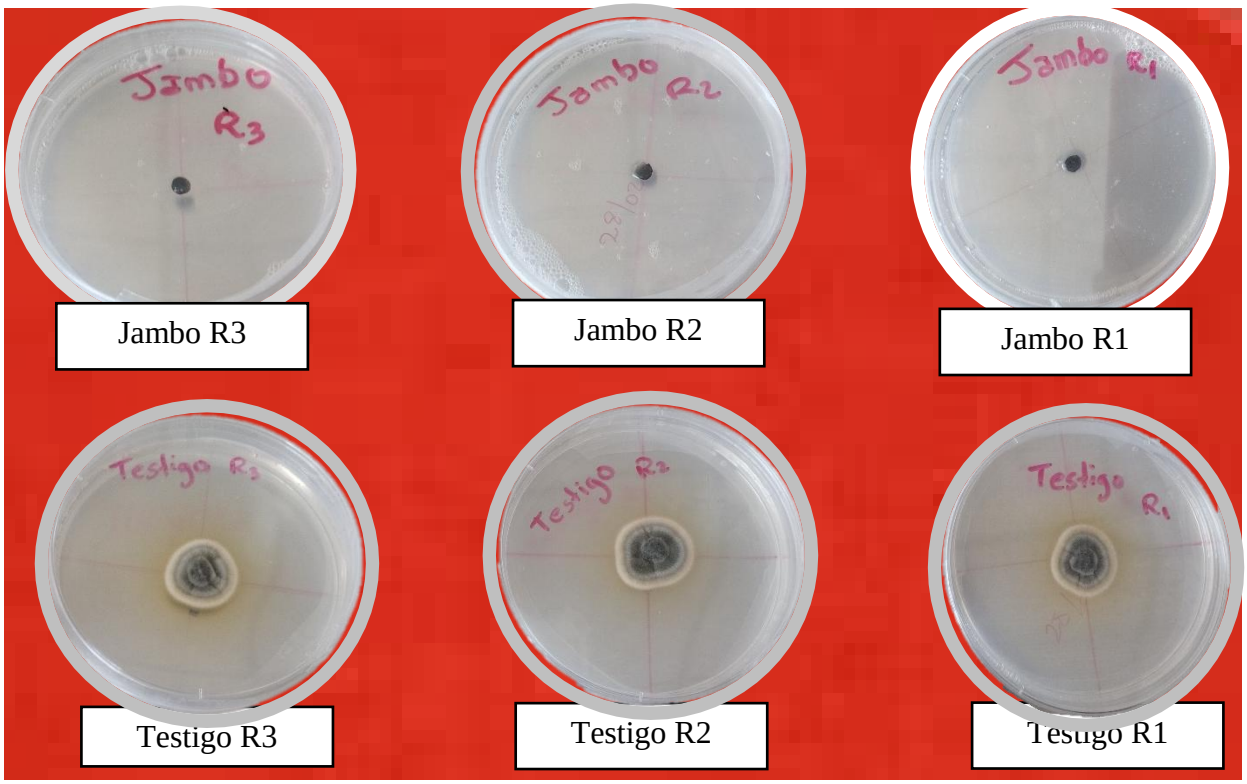
Anexo 15 *Crecimiento de Cladosporium ramotenellum en medio envenenado por Bacitab - s, a los 7 dias de haber sido sembrada*



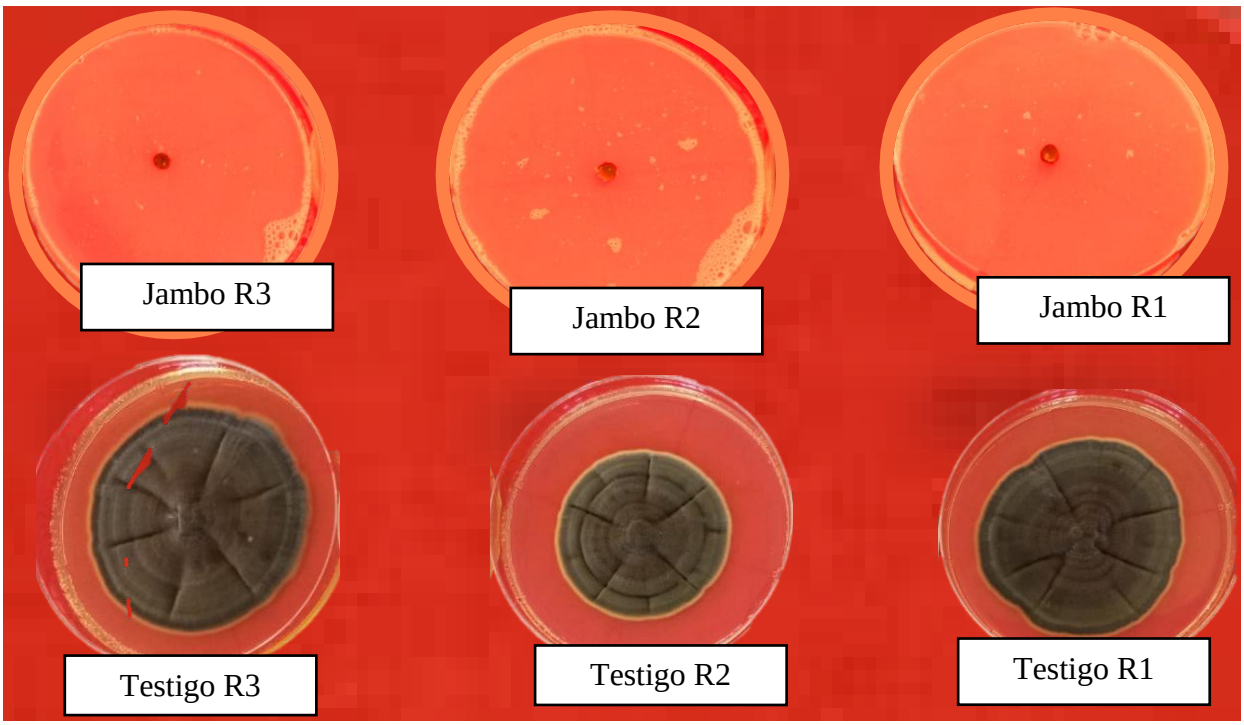
Anexo 16 *Crecimiento de Cladosporium ramotenellum en medio envenenado por Bacitab - s, a los 20 dias de haber sido sembrada*



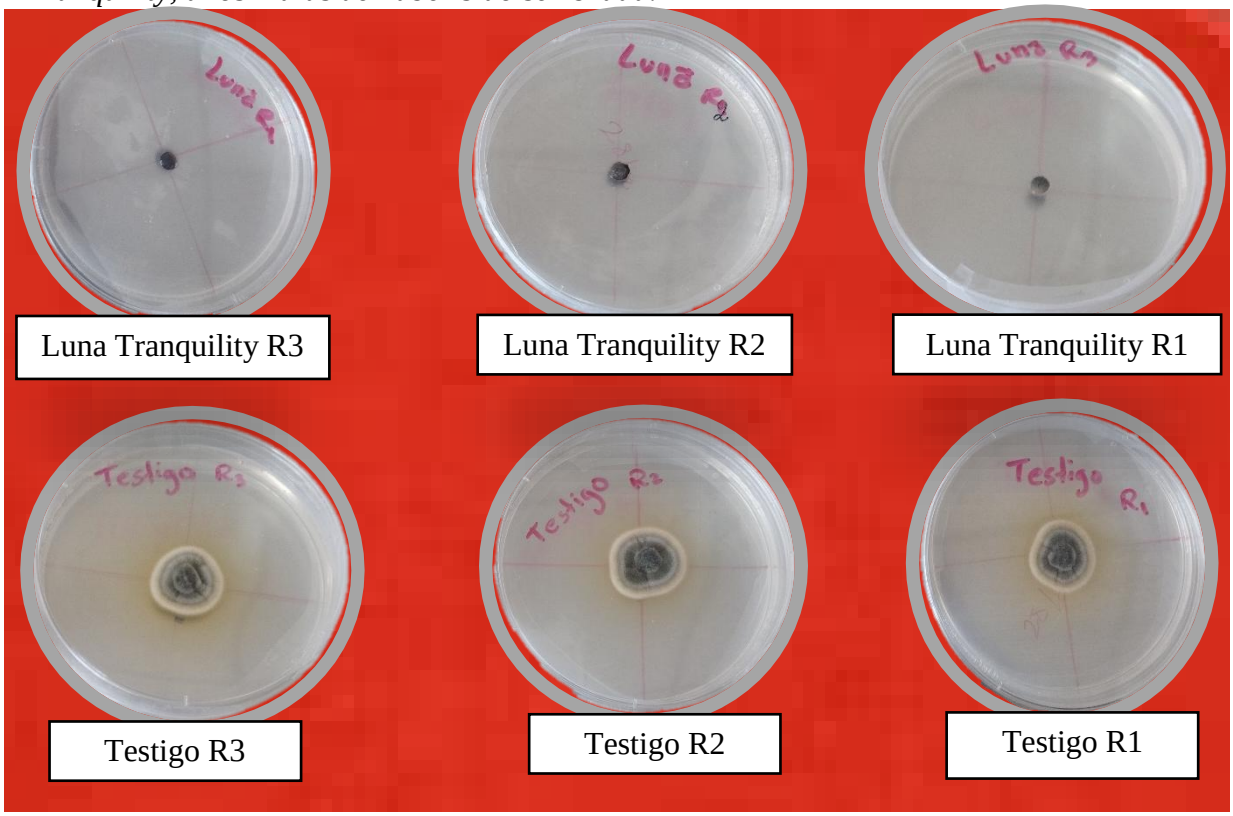
Anexo 17 *Crecimiento de Cladosporium ramotenellum en medio envenenado por Jambo, a los 7 días de haber sido sembrada.*



Anexo 18 *Crecimiento de Cladosporium ramotenellum en medio envenenado por Jambo, a los 20 dias de haber sido sembrada*



Anexo 19 *Crecimiento de Cladosporium ramotenellum en medio envenenado por Luna Tranquility, a los 7 días de haber sido sembrada.*



Anexo 20 *Crecimiento de Cladosporium ramotenellum en medio envenenado por Luna tranquility, a los 20 dias de haber sido sembrada.*

