



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

EVALUACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSOS DE RUDA Y CANELA SOBRE
EL CRECIMIENTO MICELIAL DE MONILIOPTHERA RORERI A NIVEL
IN VITRO.

POLO MONTAÑO CRISTHIAN JAVIER
INGENIERO AGRÓNOMO

MACHALA
2021



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA AGRÓNOMICA

EVALUACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSOS DE RUDA Y CANELA
SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL DE MONILIOPTHERA
RORERI A NIVEL IN VITRO.

POLO MONTAÑO CRISTHIAN JAVIER
INGENIERO AGRÓNOMO

MACHALA
2021



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA AGRÓNOMICA

TRABAJO TITULACIÓN
TRABAJO EXPERIMENTAL

EVALUACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSOS DE RUDA Y CANELA SOBRE EL
CRECIMIENTO MICELIAL DE MONILIOPTHERA RORERI A NIVEL IN VITRO.

POLO MONTAÑO CRISTHIAN JAVIER
INGENIERO AGRÓNOMO

JARAMILLO AGUILAR EDWIN EDISON

MACHALA, 24 DE SEPTIEMBRE DE 2021

MACHALA
2021

EVALUACIÓN DE LA COMBINACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSOS DE RUDA (*Ruta graveolens*) Y Canela (*Cinnamomum verum*) SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL DE *MONILIOPTHORA RORERI* A NIVEL IN VITRO

INFORME DE ORIGINALIDAD

0%

INDICE DE SIMILITUD

%

FUENTES DE INTERNET

0%

PUBLICACIONES

%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 50 words

Excluir bibliografía

Activo

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

El que suscribe, POLO MONTAÑO CRISTHIAN JAVIER, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado EVALUACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSOS DE RUDA Y CANELA SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL DE MONILIOPTHERA RORERI A NIVEL IN VITRO., otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

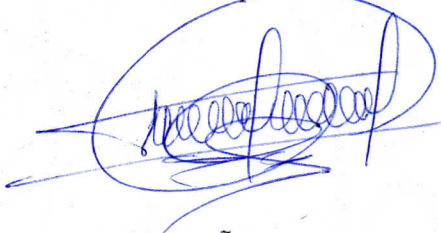
El autor declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

El autor como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 24 de septiembre de 2021



POLO MONTAÑO CRISTHIAN JAVIER
0705733616

DEDICATORIA.

El presente trabajo se lo dedico a Dios por permitirme tener vida, salud y poder realizar uno más de mis propósitos, a los dos seres que más admiro y respeto en esta vida mis padres. Sra. Martha Montaña Macas y Sr. Ángel Polo Armijos, por brindarme su amor, apoyo y comprensión durante mi carrera universitaria, esto es para ustedes, a mi hermana quien con su esfuerzo y dedicación me enseñó que con trabajo y perseverancia se alcanza el éxito, de igual forma a mi familia por siempre estar preocupados por mí.

CRISTHIAN JAVIER POLO MONTAÑO.

AGRADECIMIENTO.

Al concluir una etapa maravillosa de mi vida quiero extender un profundo agradecimiento, a quienes hicieron posible este sueño, aquellos que junto a mi caminaron en todo momento y fueron mi inspiración, apoyo y fortaleza. Esta mención especial para Dios, mis padres y mi hermana. Muchas gracias a ustedes por demostrarme que “El verdadero amor es el deseo inevitable de ayudar al otro para que este se supere”

Mi gratitud, también a la Facultad de Ciencias Agropecuarias, mi agradecimiento sincero al asesor de mi tesis Ing. Agr. Edison Jaramillo Aguilar. Mg, Sc.

Gracias a cada docente quienes con su apoyo y enseñanzas constituyen la base de mi vida profesional.

CRISTHIAN JAVIER POLO MONTAÑO.

EVALUACIÓN DE LA COMBINACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSOS DE RUDA (*Ruta graveolens*) Y Canela (*Cinnamomum verum*) SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL DE MONILIOPTORA RORERI A NIVEL IN VITRO.

Autor

Cristhian Javier Polo Montaña

Tutor

Ing. Edison Jaramillo

RESUMEN

Se cree que el origen del cacao está situado en Mesoamérica, donde encontramos evidencia de su uso hace alrededor de 2000 años A.C, en Ecuador se observan por primera vez árboles de cacao con la llegada de los españoles en las costas del pacífico, en la actualidad se cultivan 2 tipos de cacao, el nacional y el CC-N51.

El cacao es un árbol semicaducifolio de corteza oscura (gris-café) con ramas cafés y vellosas. Las hojas son ovadas simples, alternas y grabas, miden de 17 a 48 cm de largo y de 7 a 10 cm de ancho. Las flores son hermafroditas, pentámeras, actinomorfas de 10 a 20 mm de diámetro, sus inflorescencias son caulinares (en el tallo). El fruto es una mazorca, púrpura o amarillo en la madurez de 20 o 35 cm de largo y 7cm de ancho, de 5 a 10 surcos longitudinales. Las semillas con café rojizas, de forma ovada mide alrededor de 20, 30 y 50 mm de largo, 12 a 16 mm de ancho y de 1 a 12 mm de grosor. La producción mundial está centrada en África con el 66%, en Ecuador las plantaciones de cacao están distribuidas en 16 provincias y ocupan una superficie de siembra de 500 mil hectáreas. El cultivo de cacao se enfrenta a diferentes factores ambientales, tecnológicos, económicos y sociales, que están acompañados de los problemas fitosanitarios como las enfermedades que son la razón principal de la pérdida de plantaciones cacaoteras y de bajos rendimientos en la producción.

Los métodos actualmente utilizados para el control de enfermedades fúngicas son los de tipo sintético, los cuales por su elevado costo son muy poco utilizados, existen diferentes investigaciones en el uso de alternativas biológicas para el control de estas

enfermedades, una de ellas es la utilización de extractos vegetales que en su composición contienen metabolitos secundarios con acción antifúngica.

La moniliasis es una enfermedad causada por el hongo *Moniliophthora roreri* y es considerada como la más destructiva en el sector cacaotero, provoca necrosis interna y externa en los frutos, su inóculo puede sobrevivir más de siete meses en mazorcas momificadas diseminando el hongo en la época de fructificación de mazorcas. Una característica del hongo es el largo periodo de incubación, el tiempo que dura la infección puede ser de 3 a 8 semanas dependiendo de la severidad del ataque, la susceptibilidad del árbol, la edad de los frutos y las condiciones climáticas.

Los extractos de origen botánico poseen como característica principal la presencia de metabolitos secundarios los cuales forman estrategias de defensa en la planta, entre los compuestos que presentan efecto en el control de microorganismos se encuentran: flavonoides, fenoles, terpenos, alcaloides, lectinas y polipéptidos.

Los aceites o extractos de canela están constituidos por un 65 a 75 % de aldehído cinámico y de 5 a 10 % de eugenol, los cuales cumplen la función de detener la invasión de especies de hongos, en la elaboración del extracto de ruda se han encontrado sustancias como rutina y la inulina que han demostrado un efecto nematocida, también la ruda está compuesta por metabolitos secundarios como los alcaloides y flavonoides. En este trabajo de investigación se plantea el uso de extractos acuosos de canela, ruda y una combinación de ambos, en diferentes dosis para evaluar el crecimiento micelial del hongo en cultivo *in vitro*. Los tratamientos a evaluar son los siguientes: T1 90ml PDA + 10 ml EAC, T2 80 ml PDA + 20 ml EAC, T3 70 ml PDA + 30 ml EAC, T4 90 ml PDA + 10 ml EAR, T5 80 ml PDA + 20 ml EAR, T6 70 ml PDA + 30 ml EAR, T7 90 ml PDA + 10 ml EACR, T8 80 ml PDA + 20 ml EACR, T9 70 ml PDA + 30 ml EACR y el tratamiento 10 corresponde al testigo. Esta investigación fue desarrollada en el laboratorio de Fitopatología perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala, para la obtención de los extractos se utilizó tres matraces de Erlenmeyer donde se colocó el material fresco, se pesó y en cada recipiente se depositó 60gr de canela/300ml de agua destilada, 60gr de ruda/300 ml agua destilada y una combinación de 30gr de canela-30 gr de ruda/300 agua destilada, la relación peso/volumen fue de 1:5. Una vez preparado los extractos se los lleva a la autoclave durante 45 min.

En condiciones de laboratorio los tratamientos T2 (EAC al 20%) y T3 (EAC al 30%), fueron los que mejores resultados presentaron en el control del crecimiento radial de *M. roleri*, además se observa que a mayor proporción de EAR su eficiencia aumenta T6 (EAR al 30%). Los resultados nos demuestran que debemos seguir en el camino de la investigación para lograr una agricultura sostenible, para minimizar y reducir el uso de productos sintéticos, que pueden causar impacto ambiental negativo.

Palabras clave: Moniliasis, Extracto, Cacao.

EVALUATION OF THE COMBINATION OF AQUEOUS EXTRACTS OF RUDA (*Ruta graveolens*) AND Cinnamon (*Cinnamomum verum*) ON THE MICELLAR GROWTH OF MONILIOPTHORA RORERI IN VITRO.

Author

Cristhian Javier Polo Montaña

Tutor

Ing.Agr. Edison Jaramillo

ABSTRACT

It is believed that the origin of cocoa is located in Mesoamerica, where we find evidence of its use around 2000 years BC, in Ecuador cocoa trees are observed for the first time with the arrival of the Spanish on the Pacific coast, currently cultivated 2 types of cocoa, the national and CC-N51.

Cocoa is a semi-deciduous tree with dark bark (gray-brown) with brown, hairy branches. The leaves are simple ovate, alternate and engraved, 17 to 48 cm long and 7 to 10 cm wide. The flowers are hermaphrodite, pentamerous, actinomorphic, 10 to 20 mm in diameter, its inflorescences are cauline (on the stem). The fruit is a cob, purple or yellow at maturity of 20 or 35 cm long and 7cm wide, 5 to 10 longitudinal grooves. The seeds are reddish brown, ovate in shape and measure about 20, 30 and 50 mm long, 12 to 16 mm wide and 1 to 12 mm thick.

World production is centered in Africa with 66%, in Ecuador cocoa plantations are distributed in 16 provinces and occupy a planting area of 500,000 hectares. Cocoa cultivation faces different environmental, technological, economic and social factors, which are accompanied by phytosanitary problems such as diseases that are the main reason for the loss of cocoa plantations and low yields in production.

The methods currently used for the control of fungal diseases are those of synthetic type, which by their high cost are rarely used, there are different investigations in the use of biological alternatives for the control of these diseases, one of them is the use of plant extracts that contain secondary metabolites in its composition with antifungal action.

Moniliasis is a disease caused by the fungus *Moniliophthora roreri* and is considered as the most destructive in the cocoa sector, it causes internal and external necrosis of the fruits, its inoculum can survive more than seven months in mummified pods spreading the fungus at the time of fruiting of pods. A characteristic of the fungus is the long incubation period, the time that lasts the infection can be from 3 to 8 weeks depending on the severity of the attack, susceptibility of the tree, age of fruits and climatic conditions.

The extracts of botanical origin have as main characteristic the presence of secondary metabolites which form defense strategies in the plant, among the compounds that have effect in the control of microorganisms are: flavonoids, phenols, terpenes, alkaloids, lectins and polypeptides.

The oils or extracts of cinnamon are constituted by 65 to 75 % of cinnamic aldehyde and 5 to 10 % of eugenol, which fulfills the function of stopping the invasion of species of fungi, in the elaboration of the extract of rue we have found substances like rutin and inulin that have demonstrated a nematocidal effect, also the rue is composed by secondary metabolites like alkaloids and flavonoids.

In this research work the use of aqueous extracts of cinnamon, rue and a combination of both, in different doses to evaluate the mycelial growth of the fungus in *in vitro* culture is proposed. The treatments to be evaluated are the following: T1 90ml PDA + 10 ml EAC, T2 80 ml PDA + 20 ml EAC, T3 70 ml PDA + 30 ml EAC, T4 90 ml PDA + 10 ml EAR, T5 80 ml PDA + 20 ml EAR, T6 70 ml PDA + 30 ml EAR, T7 90 ml PDA + 10 ml EACR, T8 80 ml PDA + 20 ml EACR, T9 70 ml PDA + 30 ml EACR and treatment 10 corresponds to the control.

This research was developed in the laboratory of Phytopathology belonging to the Faculty of Agricultural Sciences of the Technical University of Machala, to obtain the extracts three Erlenmeyer flasks were used where the fresh material was placed, it was weighed and in each container was deposited 60gr of cinnamon/300ml of distilled water, 60gr of rue/300 ml distilled water and a combination of 30gr of cinnamon-30 gr of rue/300 distilled water, the weight/volume ratio was 1:5. Once the extracts were prepared, they were autoclaved for 45 min.

In laboratory conditions the treatments T2 (EAC at 20%) and T3 (EAC at 30%), were the ones that presented the best results in the control of radial growth of *M. roreri*, it is

also observed that the higher the proportion of EAR, the higher the efficiency of T6 (EAR at 30%).

The results show us that we must continue on the path of research to achieve sustainable agriculture, to minimize and reduce the use of synthetic products, which can cause negative environmental impact.

Keywords: Moniliasis, Extract, Cocoa.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	12
2. MARCO TEÓRICO	14
2.1. Origen.....	14
2.2. Taxonomía.....	14
2.3. Descripción Botánica	14
2.4. Producción.....	15
2.4.1. Mundial.....	15
2.4.2. Nacional.....	15
2.5. Principales enfermedades que afectan al cultivo del cacao.....	15
2.5.1. Mazorca negra.....	16
2.5.2. Escoba de bruja.....	17
2.5.3. Monilia.....	17
2.6. <i>Moniliophthora roreri</i>	18
2.6.1. Taxonomía	18
2.6.2. Agente causal	18
2.6.3. Sintomatología	19
2.6.4. Ciclo de enfermedad	20
2.6.5. Tipo de controles	21
2.7. Efecto de extractos vegetales en control fúngico de enfermedades.....	22
2.7.1. Canela	23
2.7.2. Ruda.....	23
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
3.1. Ubicación	25
3.2. Materiales y equipo	25
3.2.1. Equipos de laboratorio	25
3.2.2. Materiales de laboratorio	25
3.2.3. Material Vegetal	26
3.3. Metodología	26
3.3.1. Aislamiento y purificación del hongo <i>M. roreri</i>	26
3.3.2. Preparación de medio de cultivo PDA.....	26
3.3.3. Preparación de extractos acuosos	26

3.3.4.	Siembra del hongo	27
3.4.	Tratamientos de extractos	28
3.5.	Análisis estadístico.....	28
3.5.1.	Diseño completamente al azar (DCA)	28
3.5.2.	Prueba de Kruskal-Wallis	29
3.5.3.	Variable de estudio	29
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
5.	CONCLUSIONES.....	32
6.	RECOMENDACIONES	33
7.	BIBLIOGRAFÍA	34

ÍNDICE DE CUADRO

Cuadro 1. Taxonomía del Cacao	19
Cuadro 2. Taxonomía de <i>Moniliophthora roreri</i>	23
Cuadro 3. Prueba de Kruskal Wallis	30
Cuadro 4. Comparación de rangos de medianas.....	30

ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1. Sintomatología de Mazorca negra.....	21
Figura 2. Sintomatología Escoba de bruja	22
Figura 3. Sintomatología de moniliasis	24
Figura 4. Ciclo de vida de <i>Moniliophthora roreri</i> (Cif y Par).....	25
Figura 5. Características de hongos endófitos	26

ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1. Tratamientos de extractos aplicados en el control micelial del hongo <i>M. roreri</i>	33
---	----

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Preparación de medio de cultivo (PDA)	39
Anexo 2. Aislamiento y purificación del hongo	39
Anexo 3. Elaboración de extractos	40
Anexo 4. Plaqueo y siembra de tratamientos.....	41
Anexo 5. Crecimiento micelial de los tratamientos.....	42
Anexo 6. Anova paramétrico (dca) con datos originales.....	43
Anexo 7. Anova con datos Transformados	49

1. INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao L.*) significa "comida de los dioses" es un árbol del género Theobroma, de la familia de las Malvaceae, la cual cuenta con más de 22 especies originario de América, históricamente se dice que los mayas cultivaban el cacao y lo utilizaban como moneda. Los aztecas siguieron cultivando el cacao y su consumo era exclusivo solo para los considerados de la alta sociedad. Se presume que el nombre de chocolate se deriva de una bebida que realizaban los aztecas llamada "xocoatl". (León Villamar, Calderón Salazar, & Mayorga Quinteros, 2016).

A nivel mundial África Occidental representa a el 74.9% de la producción de grano de cacao, siendo Costa de Marfil el país que ocupa el 35% de su producción, le sigue el Sureste Asiático con un 12.1 % y con un 13% en América Latina, lo que representa anualmente 4,3 millones de toneladas de grano de cacao en el mundo (Bonilla, Zamarripa Colmenero, Pecina , Garrido , & Hernández, 2015).

En los últimos años América latina y el Caribe se han distribuido a nivel comercial en 23 países donde representan una producción de 675000 TM, y sus principales productores son Brasil, Ecuador, República Dominicana, Perú, Colombia y México que comprende más del 90% de la producción y la superficie sembrada del continente. (Arvelo, González, Delgado , Maroto, & Montoya, 2017).

Ecuador es considerado como el primer productor a nivel mundial de cacao fino y de aroma con un 70% de la producción en el mundo, en el año 2015 el país exporto 236,677 toneladas de cacao en grano, de las cuales 165,673 fueron de calidad fino y de aroma (Morales, y otros, 2018). Las provincias con mayor producción y superficie de siembra son Los Ríos, Guayas, Manabí, Esmeraldas y El Oro ,en las provincias del nororiente Sucumbíos, Orellana y Napo (Vicepresidencia, 2015).

Las principales enfermedades de cacao en América Latina son la escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*) que afecta a las plantaciones en un 60 a 70 % de la producción y la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) ocasiono perdidas hasta de un 80% en cacaoteras siendo el problema principal en los productores de cacao en el Ecuador (Bernal , 2021).

La moniliasis es una enfermedad causada por el hongo *Moniliophthora roreri* presente en 11 países de Centro y Suramérica, siendo la causa principal de bajos rendimientos

en cacaoteras ocasionando pérdidas que van desde un 16 a 80 % de la producción (Abad, Alvarado, & Gallardo, 2018). Su sintomatología comienza con la aparición de manchas café sobre las mazorcas jóvenes, seguida de la formación de esporas y protuberancias que causan daño en el fruto (Guerrero, Cevallos, Eguez, & Peñaherrera, 2020).

Debido a los problemas fitosanitarios en la producción de cacao se han puesto en práctica los controles químico, biológico y cultural para reducir la diseminación del hongo *M. roleri* en plantaciones cacaoteras (Correa Álvarez, Castro Martínez, & Coy, 2014). Varios estudios reportaron la reducción de moniliasis de un 40% aplicando un manejo integrado compuesto de podas y raleos fitosanitarios. El uso de antagonistas en el control de fitopatógenos es otra de las alternativas de manejo complementado por el uso de clorotaronil fungicida sistémico de amplio espectro. La aplicación de este conjunto de controles ayuda a disminuir la incidencia de la moniliasis en el cacao (Anzules, Borjas, Alvarado, Castro, & Julca, 2019).

El uso de extractos vegetales es una alternativa de agricultura sostenible para el control de plagas, enfermedades y arvenses. Existen alrededor de 3000 compuestos botánicos que evidencian actividad fungicida, bactericida, insecticida, nematocida y repelente. Los extractos vegetales se caracterizan por la presencia de metabolitos secundarios en la planta, formando estrategias de defensa (Celis, Mendoza, & Pachón, 2009).

Después de analizar el efecto de las enfermedades en el cultivo de cacao y las pocas alternativas para el manejo, principalmente de la moniliasis, se propone el uso de extractos vegetales como un control cultural y amigable con el medio ambiente, es por esto que nuestra investigación plantea el uso de extractos acuosos de ruda y canela en diferentes dosificaciones para el control micelial del hongo *M. roleri* a nivel in vitro.

Objetivo general

- Determinar el mejor extracto acuoso que inhiba el crecimiento micelial del hongo *M. roleri* a nivel in vitro.

Objetivo específico

- Evaluar el crecimiento radial del hongo Fito patógeno (*Moniliophthora roleri*) en los diferentes tratamientos a través del tiempo.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Origen

A lo largo de la historia se ha sostenido que el punto de origen del cacao se situaba en Mesoamérica (México, Guatemala y Honduras) donde su uso se evidencia alrededor de 2,000 años antes de cristo, estudios recientes demostraron que por lo menos una variedad de cacao es originaria de la Amazonia (Cedeño Mesía, 2019).

En el ecuador el cacao se da origen con la llegada de los españoles en la costa del pacífico se observaban árboles. En el país se cultivan dos tipos de cacao: el Cacao CCN-51 y el Cacao Nacional denominado en el tiempo colonial como "Arriba. Los principales productores de cacao en el ecuador son las provincias de Los Ríos, Guayas, Manabí y Sucumbíos (Cedeño Mesía, 2019).

2.2. Taxonomía

Según (Arvelo, González, Maroto, Delgado, & Montoya, 2017) la taxonomía del cacao se clasifica en:

Cuadro 1. Taxonomía del Cacao

Reino	Vegetal
Subreino	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Dilleniidae
Orden	Malvales
Familia	Esterculiceae
Subfamilia	Byttnerioideae
Tribu	Theobromeae
Genero	Theobroma
Especie	Theobroma cacao L.

2.3. Descripción Botánica

El cacao es un árbol semicaducifolio de corteza oscura (gris-café) con ramas café y vellosas. Las hojas son ovadas simples, alternas y grabas, miden de 17 a 48 cm de largo y de 7 a 10 cm de ancho. Las flores son hermafroditas, pentámeras, actinomorfas

de 10 a 20 mm de diámetro, sus inflorescencias son caulinares (en el tallo). El fruto es una mazorca, púrpura o amarillo en la madurez de 20 o 35 cm de largo y 7 cm de ancho, de 5 a 10 surcos longitudinales. Las semillas con café rojizas, de forma ovada mide alrededor de 20, 30 y 50 mm de largo, 12 a 16 mm de ancho y de 1 a 12 mm de grosor (Arvelo, González, Maroto, Delgado, & Montoya, 2017).

2.4. Producción

2.4.1. Mundial

A nivel mundial se exportan 3,3 millones de toneladas de cacao, África es el principal productor de cacao con el 66% en el mundo. Seguido de Asia con un 17,5% de la producción y América en los últimos años incremento el desarrollo productivo de cacao en un 11% siendo Brasil y Ecuador sus principales países productores (Sánchez, Zambrano, & Iglesias, 2019).

En América el cacao es cultivado desde México hasta Brasil y representan el 40% de superficie sembrada en la región, le siguen países con menor cantidad de plantaciones de cacao establecidas como Ecuador (24%), R. Dominicana (9%), Perú (6%) y Venezuela con un (4%) (Sánchez, Zambrano, & Iglesias, 2019).

2.4.2. Nacional

Las plantaciones de cacao están distribuidas en 16 provincias y ocupan una superficie de siembra de 500 mil hectáreas (Pérez, Chimborazo, & Freile, 2015). En Ecuador el 95% de la producción de cacao la conforma los pequeños agricultores con una superficie de siembra menor a 3 ha. Sin embargo, tiene un buen posicionamiento en mercados internacionales (Barrezueta, Prado, & Jimbo, 2017).

El Cacao Arriba y el CCN-51 se siembra y se cultiva en el Ecuador, está distribuido en diferentes provincias: Esmeraldas, Manabí, Los Ríos, Guayas, El Oro, Pichincha, Cotopaxi, Bolívar, Chimborazo, Cañar, Azuay y parte del Oriente, el 70% de la producción de cacao fino a nivel mundial la produce Ecuador (Chávez, Olaya, & Maza, 2018).

2.5. Principales enfermedades que afectan al cultivo del cacao

A nivel mundial existen diferentes factores que causan la baja producción de cacao, las enfermedades que causan más daño a las plantaciones cacaoteras son: la escoba de bruja causada por el hongo *Moniliophthora perniciosa* Stahel., la moniliasis provocada

por *Moniliophthora roreri* Cif & Par y la pudrición negra de la mazorca (*Phytophthora* spp.) (Martínez & Pérez, 2015).

El cultivo de cacao se enfrenta a diferentes factores ambientales, tecnológicos, económicos y sociales, que están acompañados de los problemas fitosanitarios como las enfermedades que son la razón principal de la pérdida de plantaciones cacaoteras y de bajos rendimientos en la producción, los productores optan por otros cultivos (Hernández , y otros, 2015).

2.5.1. Mazorca negra

La mazorca negra es la enfermedad que causa más destrucción en plantaciones de cacao en todo el mundo, su agente causal son varias especies de *Phytophthora*, las pérdidas provocadas por esta enfermedad oscilan entre el 30 y el 90% de la producción. África occidental y central son los más afectados por mazorca negra, siendo ellos los principales proveedores del 60 y 70 % de producción de granos de cacao en el mundo. Sus síntomas se presentan en la mazorca y la infección da comienzo por lo general en la punta o en el tallo, causando lesiones de color marrón que se propaga y cubre la vaina, los granos pueden permanecer sin daños si se realiza cosechas frecuentes en la plantación, en infecciones avanzadas invade los tejidos internos, causa decoloración y marchitez en los granos de la mazorca (Martel Pariona & Vila Santiago, 2019). El control químico a base de fungicidas cúpricos tienen resultados beneficiosos a la hora de controlar la enfermedad , también se utiliza el control biológico utilizando hongos fitopatógenos como trichoderma asociado a un buen manejo integrado de la plantación con podas y recolección de mazorcas enfermas (Sánchez , Jaramillo, & Ramírez, 2015).

Figura 1. Sintomatología de Mazorca negra



Fuente: (Martel Pariona & Vila Santiago, 2019).

2.5.2. Escoba de bruja

La Escoba de bruja es una de las enfermedades más dañina en el cultivo de cacao, su agente causal es el hongo *Moniliophthora perniciosa*. Se encuentra distribuida en América del Sur y Centroamérica, su sintomatología provoca lesiones y crecimientos anormales en los brotes, ramas, cojines florales y frutos. Su propagación se da por medio de tejidos como, semillas, plántulas, y frutos, se estima que un basidiocarpio puede desprender alrededor de 80 a 90 millones de basidiosporas en un ambiente con alta humedad se desarrollan y penetran en los tejidos meristematicos jóvenes a través de estomas y epidermis (Martel Pariona & Vila Santiago, 2019). El método de control más efectivo para el control de la enfermedad escoba de bruja es el manejo integrado, compuesto de podas, eliminación de mazorcas y reduciendo la humedad relativa dentro de las plantaciones cacaoteras (Sánchez , Jaramillo, & Ramírez, 2015).

Figura 2. Sintomatología Escoba de bruja



Fuente: (SENASICA, 2016)

2.5.3. Monilia

El origen de la enfermedad se sitúa en Colombia y está distribuida en América tropical, la monilia ha limitado el desarrollo productivo a las especies de genero Theobroma y Herrania. La moniliasis es una enfermedad altamente agresiva en plantaciones cacaoteras, que ocasiona que una sola espora del hongo *M. roreri* pueda infectar un fruto (Solís , Zamarripa, Pecina, Garrido, & Hernández, 2015).

El manejo integrado de plagas, complementado con labores realizados en campo como podas y raleos fitosanitarios han demostrado la disminución de un 40% de la incidencia de la enfermedad moniliasis en el cacao, otra de las alternativas es el uso de hongos

antagonista y el control químico a base de clorotaronil un fungicida sistémico, estas prácticas ayudan a tener un manejo eficiente sobre la enfermedad y evitar bajos rendimientos en la producción de cacao (Anzules, Borjas, Alvarado, Castro, & Julca, 2019).

2.6. Moniliophthora roreri

Moniliophthora roreri es el agente causal de la enfermedad moniliasis es considerada como la más destructiva en América latina, provoca necrosis interna y externa en los frutos (Ortíz, Torres, & Hernández, 2015). Es un hongo que afecta a mazorcas jóvenes en dos fases: la fase inicial biotrófica comienza con la disponibilidad del en los tejidos huésped y la segunda fase saprofítica degrada el tejido provocando necrosis en las mazorcas (Guerrero, Cevallos, Eguez, & Peñaherrera, 2020). Su inóculo puede sobrevivir más de siete meses en mazorcas momificadas diseminando el hongo en la época de fructificación de mazorcas. El bajo control de labores en campo del hongo M. roreri ha provocado pérdidas de la producción desde un 75% hasta un 100% en plantaciones sin manejo (Ortíz, Torres, & Hernández, 2015).

2.6.1. Taxonomía

Según (Suárez & Hernández, 2010) la taxonomía de Moniliophthora roreri se clasifica en:

Cuadro 2. Taxonomía de Moniliophthora roreri

Dominio	Eukaryota
Reino	Fungi
Filum	Basidiomycota
Clase	Basidiomycetes
Subclase	Agaricomycetidae
Orden	Agaricales
Familia	Tricholomataceae
Género	Moniliophthora
Especie	M. roreri

2.6.2. Agente causal

Moniliophthora roreri (Cif y Par) es el agente causal de la moniliasis, en un inicio fue llamado Monilia roreri por y clasificado dentro del filum Ascomicota , descrito como

un hongo anamorfico debido a la ausencia de un estado meiotico y estructuras sexuales, luego de varios estudios de microscopia electrónica encontraron la presencia de esporogénesis basipetal , resultado que dio origen a la creación del nuevo género *Moniliophthora* (Suárez & Hernández, 2010).

En los métodos más aplicado para el combate de *M. royeri* en cacao son los manejos culturales en campo, el uso de fungicidas ha sido una práctica química descartada por el alto costo y poco resultados favorables en la inhibición del hongo en plantaciones cacaoteras (Torres de la Cruz, Ortiz, Téliz , Mora, & Nava, 2013).

2.6.3. Sintomatología

Figura 3. Sintomatología de moniliasis



Fuente: (Pérez Vicente, 2018).

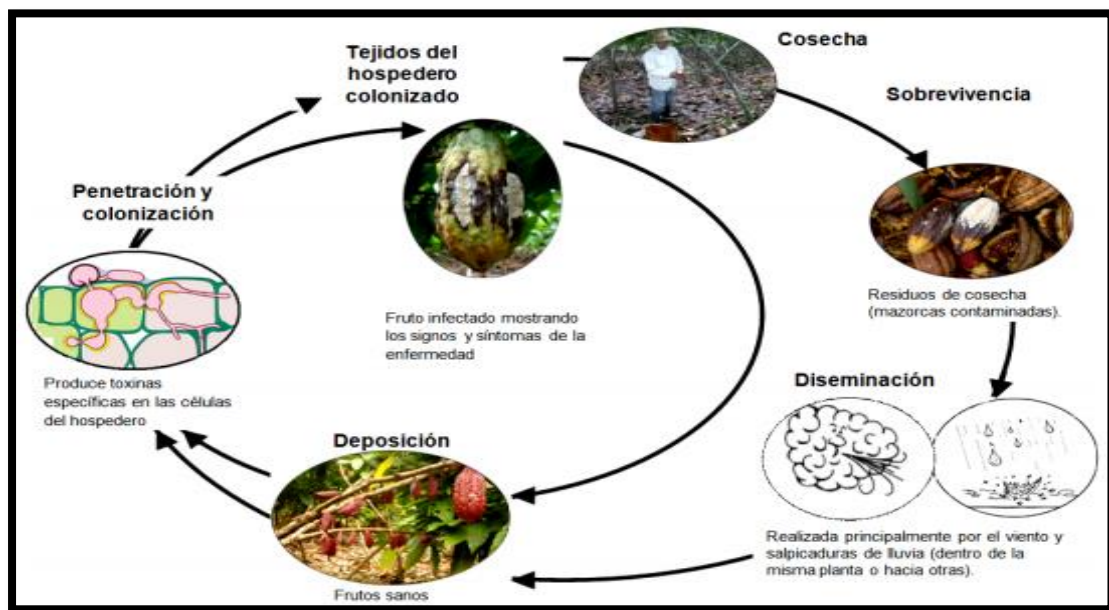
La moniliasis se presenta en las mazorcas con decoloraciones acuosas y grasientas (hidrosis), deformación en tejidos de los frutos, desarrollo de manchas pardas e irregulares complementada por necrosis en los tejidos afectados otros de los síntomas que se presenta usualmente son la maduración precoz de la mazorca, masas blancas de esporas, momificación de frutos y las pudriciones acuosas en fruto y semilla (Pérez Vicente, 2018).

Las lesiones causadas por este patógeno, se caracterizan por la presencia de una masa densa (esporas del hongo) sobre los frutos(mazorcas) infectados que van cambiando gradualmente de cenizo a color marrón de acuerdo al avance de infección de la enfermedad (Carrera, Herrera, Díaz, & Leiva, 2016).

2.6.4. Ciclo de enfermedad

El ciclo de la enfermedad empieza en los residuos de la cosecha (mazorcas enfermas) que son hospederas de conidios que son diseminadas por diferentes factores ambientales como lluvia y el viento que se encargan de diseminar los conidios en plantaciones cercanas. Con mayor frecuencia los frutos que se están formando son infectados, estudios determinan que la mayor presencia de esporas de *M. roleri* se encuentra a 1 metro de altura en los arboles de cacao. Las conidias se depositan sobre la mazorca y germinan en épocas de alta humedad o lluvias, pueden penetrar directamente al fruto a través de las estomas. La característica principal del patógeno es el largo periodo de incubación, el tiempo que dura la infección puede ser de 3 a 8 semanas dependiendo de la severidad del ataque, la susceptibilidad del árbol, la edad de los frutos y las condiciones climáticas adecuadas se da un periodo de incubación de 30 a 70 días (Sánchez Mora & Garcés Fiallos, 2012).

Figura 4. Ciclo de vida de *Moniliophthora roleri* (Cif y Par)



Fuente: (Sánchez Mora & Garcés Fiallos, 2012)

2.6.5. Tipo de controles

2.6.5.1. Químico

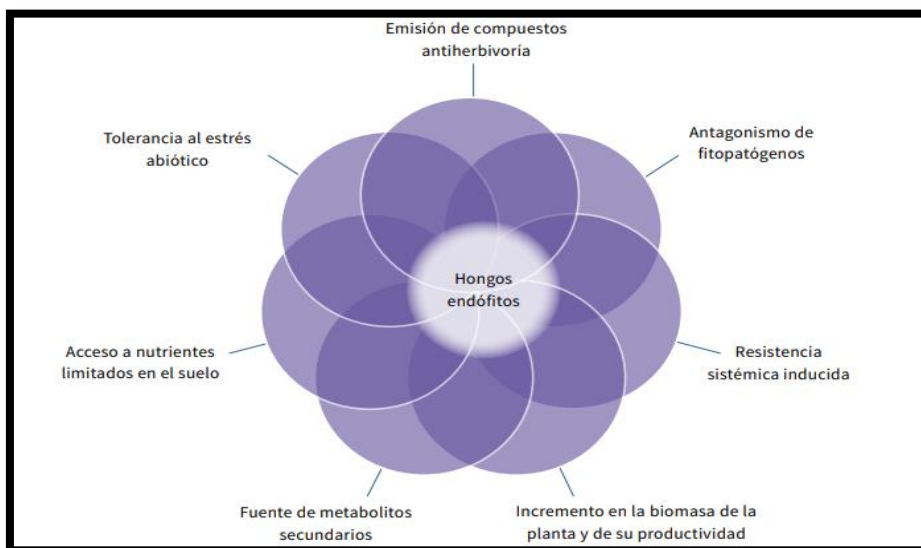
Algunas investigaciones han demostrado que el uso de fungicidas como control químico para moniliasis tiene resultados favorables, pero sus altos costos obligan a los productores a buscar otras alternativas de control. Los fungicidas que han presentado una inhibición de las esporas de *M. royeri*, son a base de cobre, azoxystrobin inhibió el 100% la germinación de conidios y un 96% el crecimiento micelial, por lo tanto recomiendan su uso acompañado de un manejo integrado de plagas (MIP) para mejores resultados en el control de moniliasis en cacao (Anzules, Borjas, Alvarado, Castro, & Julca, 2019).

2.6.5.2. Biológico

El control biológico se basa en la incorporación de microorganismos como una herramienta para reducir el crecimiento del inoculo de un patógeno. Se emplean organismos antagonistas como *Trichoderma* sp, se ha demostrado una eficacia del 95% en condiciones de laboratorio y del 89% con *Bacillus brevis* a nivel in vitro en la inhibición de *M. royeri* (Correa , Castro, & Coy, 2014).

El microorganismo endófito induce la producción de metabolitos secundarios en las plantas, le confieren resistencia al hospedero contra factores bióticos como enfermedades causadas por nematodos, hongos patógenos y bacterias (Aragón & Beltrán, 2018).

Figura 5. Características de hongos endófitos



Fuente: (Aragón & Beltrán, 2018)

2.6.5.3. Cultural

El control cultural es la herramienta principal para el manejo de enfermedades en plantaciones cacaoteras, el control consiste en la práctica de podas fitosanitarias, remoción de mazorcas enfermas, manejo de sombras y mantenimiento en la plantación. Varios estudios reportan que las podas fitosanitarias pueden llegar a reducir el impacto de las enfermedades hasta un 50% e incrementar la producción, pero el alto costo de mano de obra y la altura de los árboles han hecho que los productores desistan de esta labor cultural en campo (Guerrero, Cevallos, Eguez, & Peñaherrera, 2020).

Las siguientes labores como podas frecuentes, buen drenaje, regulación de la copa, densidades apropiadas, buen control de malezas y una correcta fertilización ayudan al óptimo desarrollo del árbol de cacao, evitando que el patógeno tenga pocas probabilidades de establecerse y diseminar la enfermedad por la plantación (Silva Pérez, 2015).

2.7. Efecto de extractos vegetales en control fúngico de enfermedades.

Para el manejo de enfermedades por hongos fitopatógenos, se ponen en prácticas varias alternativas de control químico, biológico y cultural. El cacao, un cultivo de gran importancia económica, se ve amenazado por la moniliasis provocando problemas fitosanitarios y baja producción, debido a la falta de capacitación de productores y los bajos recursos económicos, se plantea como alternativa el uso de extractos vegetales. Los extractos de origen botánico poseen como característica principal la presencia de metabolitos secundarios los cuales forman estrategias de defensa en la planta (Arcos, Martínez, Ortiz, Martínez, & Avendaño, 2019).

Según Villacís, y otros (2017), el uso excesivo de pesticidas que se vienen utilizando en el sector agrícola, hacen que los alimentos que consumimos a diario en nuestra alimentación estén contaminados, plantean el uso de extractos botánicos como beneficio para el medio ambiente y como una alternativa rentable para el sector agrícola, que pueden ser usados para el control e inhibición de bacterias y hongos fitopatógenos, empujando a una agricultura sustentable.

Los metabolitos secundarios son compuestos químicos que utiliza la planta como estrategia de defensa en condiciones de estrés biótico y abiótico principalmente cuando

están expuestas a un ataque de insectos o hongos fitopatógenos. Entre los compuestos que presentan efecto en el control del microorganismo se encuentran: flavo-noides, fenoles, terpenos, alcaloides, lectinas y polipéptidos (Andrade, y otros, 2017).

Existen algunos métodos para obtener el extracto vegetal, todos estos componentes se extraen de la parte vegetativa como reproductiva de la planta, tales como raíces, hojas, brotes, tallos, flores y frutos. Se aplican diferentes técnicas de extracción para obtener los compuestos metabólicos de la planta se emplean extractos acuosos, etanólico, metanólico y aceites esenciales (Mesa , Ocampo, Monsalve, Marín, & Calle, 2019).

2.7.1. Canela

Los aceites o extractos de canela están constituido por un 65 a 75 % de aldehído cinámico y de 5 a 10 % de eugenol, bioquímicamente las plantas han desarrollado dos tipos de compuesto, los antifungicos o inhibitorias los cuales cumple la función de detener la invasión de especies de hongo y las fitoalexinas son encargadas de producir una respuesta a la infección de patógenos, por hidrólisis enzimática (Armas Caballero, Márquez Villacorta, & Pretell Vásquez, 2011).

La actividad antifúngica en el extracto acuoso de Canela, se da en una concentración de 500 ppm contra los hongos *Aspergillus flavus*, *A. ochraceus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Penicillium citrium* y *Penicillium viridicatum*, demostrando una completa inhibición micelial, debido al efecto de permeabilidad de cada célula rodeada por una capa llama membrana permeable (Rueda, Colorado, Salas, Muñoz, & Hernández, 2013).

Según (González, Paredes, Erazo, & Sánchez, 2019) demostraron la actividad antifúngica del aceite esencial de canela, que inhibió el desarrollo del hongo *Botrytis* sp a nivel in vitro , en dosis mínimas de 125 ppm y a partir de una concentración mayor de 250 ppm se inhibe por completo el crecimiento de la colonia de *Botrytis* sp.

2.7.2. Ruda

Ruda (*Ruta graveolens*) es una planta herbácea perenne, su origen se da en la región mediterránea. La ruda es utilizada debido a sus propiedades y componentes espasmolíticas, venotónicas, antihistamínicos, antihelmínticas y antiparasitarias, la

elaboración del extracto de ruda han presentado efecto insecticida en el coleóptero *Tribolium castaneum* (Alegre, Bonifaz, Solange , & Iannacone, 2017).

Las especies más propagadas del genero Rutaceae son *Ruta chalepensis* L., *Ruta graveolens* L. y *Ruta montana*, son usadas habitualmente por sus propiedades medicinales como antiespasmódico, hipotensor, carminativo, sedante, emenagogo, estimulante, diaforético, antiséptico para la piel, repelente, antifúngico e insecticida. Los metabolitos secundarios presente en distintas partes de esta planta son alcaloides, flavonoides, fenoles, aminoácidos, furocumarinas y saponinas (Bonilla , y otros, 2020).

En la especie *R. graveolens* encontramos sustancias como rutina y la inulina que han demostrado un efecto nematocida, en las hojas y flores de la ruda está compuesta por metabolitos secundarios como los alcaloides y flavonoides que actúan como mecanismo de defensa por sus propiedades insecticidas y fungicidas (Tenorio Ordoñez, 2020).

Según (Romero, Morales, Pino, Cermeli, & González, 2015) indicaron que *R. graveolens* produce un alto porcentaje de mortalidad de mosca blanca a nivel in vitro las primeras 72 horas. Se presentó un elevado efecto insecticida de adultos de mosca blanca donde se evidencio la eficacia de los metabolitos secundarios presentes en la ruda a las 24 y 48 horas.

Bañuelos, Delgadillo, Echavarría, Delgadillo, & Meza (2018), indicaron en su investigación que el extracto de *R. graveolens* estaba compuesto de limoneno un antifúngico , antibacteriano y antiviral, el timol un fenol antiinflamatorio, antifúngico y antioxidante , por el ultimo el carvacrol es un antibacteriano , antifúngico y expectorante demostrando los compuesto benéficos de la ruda.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El estudio se realizó en el laboratorio de fitopatología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias perteneciente a la Universidad Técnica de Machala, ubicada en la Av. Panamericana, 5,5 km vía Machala-Pasaje, parroquia El Cambio en el cantón Machala, provincia de El Oro.

3.2. Materiales y equipo

3.2.1. Equipos de laboratorio

- Estufa
- Cámara de flujo
- Microondas
- Mechero de bunsen
- Auto clave
- Licuadora
- Balanza

3.2.2. Materiales de laboratorio

- Algodón
- Vasos de precipitación
- Probeta
- Botellas de vidrio
- Cajas Petri
- Mechero de alcohol
- PDA (Papa-Destroza-Agar)
- Cinta plástica
- Cloranfenicol
- Alcohol
- Pinzas
- Agua destilada

3.2.3. Material Vegetal

- Ruda (Ruta graveolens)
- Canela (Cinnamomum verum)

3.3. Metodología

3.3.1. Aislamiento y purificación del hongo *M. roleri*.

El aislamiento y purificación del hongo se realizó en el jardín clonal de la Universidad Técnica de Machala (UTMACH), de donde se extrajo mazorcas de variedad CCN-51 que presentaban sintomatología de la enfermedad moniliasis ocasionada por el hongo *M. roleri*, se retiró las mazorcas del árbol y fueron colocadas en una funda plástica para evitar la diseminación de las esporas dentro de la plantación, se procedió a llevarlas al laboratorio para la extracción de las respectivas muestras y sembrar el micelio del hongo en cajas Petri con PDA, aislada durante 14 días para evaluar su crecimiento micelial y proceder a la purificación por el mismo tiempo a temperatura ambiente (25°C), finalmente se escoge las mejores muestras con mayor crecimiento radial del hongo para utilizar en el experimento.

3.3.2. Preparación de medio de cultivo PDA

Se preparó 1500 ml de medio de cultivo papa-destroza-agar (PDA), del cual utilizamos 820 ml para nuestro experimento, el sobrante lo almacenamos en botellas de vidrio en la nevera, para la elaboración del medio de cultivo se pesa 20gr de PDA por cada 500 ml de agua purificada, se coloca en el microondas durante 3 minutos hasta observar una pequeña ebullición y una apariencia translúcida, se coloca 60mg cloranfenicol se remueve y se afora con agua caliente hasta 500ml en un vaso de precipitación, finalmente se distribuye el PDA con una probeta en botellas de vidrio con una tapa de papel aluminio y sellado con cinta alrededor, las medidas usadas son 70-80-90 ml de medio de cultivo, se procede a llevar al esterilizador (autoclave) donde se purificara y estará listo para realizar la inoculación del hongo y sus diferentes extractos.

3.3.3. Preparación de extractos acuosos

Para la selección del material vegetal se realizó un análisis de artículos científicos donde usaban extractos botánicos de origen vegetal que evidenciaban resultados favorables en sus estudios para el control de hongos fitopatógenos y su inhibición del

crecimiento radial a nivel in vitro. Las plantas seleccionadas fueron: Ruda (*Ruta graveolens*) y Canela (*Cinnamomum verum*). La metodología para la extracción de extractos fue basada en la investigación de Boiteux, Vanda, Fernández, Lucero , & Pizzuolo(2015), modificamos el procedimiento en función de los tratamientos y la combinación de extractos a emplear.

3.3.3.1. Esterilización de extractos

Se utilizó tres matraces de Erlenmeyer donde se colocó el material fresco, se pesó y en cada recipiente se depositó 60gr de canela/300ml de agua destilada, 60 gr de ruda/300 ml agua destilada y una combinación de 30 gr de canela-30 gr de ruda/300 agua destilada, la relación peso/volumen fue de 1:5. Una vez preparado los extractos se los lleva a la autoclave durante 45 min, y se observa la cantidad de extracto obtenido.

3.3.3.2. Reducción

Para reducir el excedente de extracto y tener una mayor concentración pura se utilizó el mechero de bunsen, donde colocamos el Erlenmeyer luego de haberlo esterilizado, y se procede a dejar los recipientes durante 3 a 5 min y ser llevados a la cámara de flujo donde se procederá a la dosificación e inoculación del hongo.

3.3.3.3. Dosificación

La dosificación se realizó de la siguiente manera, en 10 recipientes de vidrio con medidas establecidas de 70-80-90 ml PDA, se colocó 10-20-30 ml del extracto canela, ruda y el combinado de acuerdo a los tratamientos y una botella de 100 ml de PDA como testigo para evidenciar la diferencia significativa en relación al testigo, una vez terminado se procede al plaqueo y siembra del inoculo.

3.3.4. Siembra del hongo

Para la siembra, se utilizó el hongo *M. royeri* previamente aislado y las botellas con extracto y PDA, se procede a realizar el plaqueo del extracto en cajas Petri, donde se hacen 4 repeticiones por tratamientos, una vez terminado el plaqueo esperamos a que se solidifiquen y se procede a la siembra del hongo con la ayuda de un saca bocado, extraemos un micelio del hongo *M. royeri* y lo colocamos en la caja Petri solidificada con extracto, se tapa, se sella y se marca con la nomenclatura que identifique el tratamiento correspondiente. Los datos se toman durante tres semanas, para evaluar el

crecimiento, se divide las cajas Petri en cuatro cuadrantes A-B-C-D y se va evaluando dos veces por semana el crecimiento o inhibición del hongo de forma radial.

3.4. Tratamientos de extractos

Tabla 1. Tratamientos de extractos aplicados en el control micelial del hongo M. roreri.

Tratamientos	Concentraciones (%/ml)	Extractos	Dosificación(ml) (PDA+EXTRACTO)
T1	10	Pda+canela	90 + 10
T2	20	Pda+canela	80 + 20
T3	30	Pda+canela	70 + 30
T4	10	Pda+ruda	90 + 10
T5	20	Pda+ruda	80 + 20
T6	30	Pda+ruda	70 + 30
T7	10	Pda+ruda/canela	90 + 10
T8	20	Pda+ruda/canela	80 + 20
T9	30	Pda+ruda/canela	70 + 30
T10	100	Testigo (PDA)	100

3.5. Análisis estadístico

3.5.1. Diseño completamente al azar (DCA)

El diseño completamente al azar (DCA), es el más simple de todos los diseños estadísticos, donde solo se estudia el efecto de un factor el cual varía en diferentes tratamientos. Es muy útil en unidades experimentales homogéneas (UE), promoviendo el máximo número de grados libertad del error, flexibilidad número de tratamientos y replicas.

$$Y_{kn} = \mu + T_k + \varepsilon_{kn} \quad Y_{kn} = \mu + T_k + \varepsilon_{kn}$$

- Y_{kn} =variable de respuesta
- μ = media global T
- k = efecto del tratamiento
- ε_{kn} = error aleatorio

3.5.2. Prueba de Kruskal-Wallis

El test de Kruskal-Wallis, también conocido como test H, es una alternativa no paramétrica al anova de un factor, para datos no pareados. En el anova se comparan medias y en el test de Kruskal-Wallis contrasta si las muestras están equidistribuidas y que pertenece a una misma población. El uso del test de Kruskal-Wallis es adecuado cuando los datos tienen un orden normal o cuando no se satisfacen las condiciones para poder aplicar un ANOVA.

3.5.3. Variable de estudio

La variable de estudio a evaluar fue el crecimiento micelial del hongo *M. royeri*, en base a la aplicación de diferentes extractos acuosos en diferentes dosis.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con los datos obtenidos en el ensayo experimental se realizaron las pruebas de normalidad y homocedasticidad, Shapiro-Wilks y Levene, para ver si cumple respectivamente dichos supuesto. Se evidencio que los datos obtenidos no tienen una varianza homogénea ni distribución normal, se procedió a realizar un análisis no paramétrico mediante la prueba Kruskal-Wallis.

Cuadro 3. Prueba de Kruskal Wallis

Variable	TRATAMIENTOS	N	Medias	D.E.	Medianas	H
\underline{P}						
AUDPC	T1	4	34.34	1.24	34.61	
	35.22 <0.0001					
AUDPC	T10	4	41.76	2.26	41.83	
AUDPC	T2	4	0.00	0.00	0.00	
AUDPC	T3	4	0.00	0.00	0.00	
AUDPC	T4	4	22.10	1.27	22.31	
AUDPC	T5	4	17.24	1.85	17.48	
AUDPC	T6	4	9.30	0.93	9.40	
AUDPC	T7	4	37.90	1.84	37.75	
AUDPC	T8	4	25.81	13.28	26.30	
AUDPC	T9	4	36.55	3.78	37.74	

Cuadro 4. Comparación de rangos de medianas

Trat.	Ranks				
T2	4.50	A			
T3	4.50	A			
T6	10.50	A	B		
T5	15.75	A	B	C	
T4	20.50	A	B	C	D
T8	22.75		B	C	D
T1	26.25		B	C	D
T9	30.25			C	D
T7	32.25				D
T10	37.75				E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Como se observa en el cuadro 3, la prueba de Kruskal Wallis, demuestra que al menos un tratamiento es estadísticamente diferente al resto y en el cuadro 4 observamos la comparación de rangos de medianas, que muestra diferentes agrupaciones y niveles, por lo tanto, letras iguales entre tratamientos no son significativamente diferentes.

En el cuadro 4, en la prueba de comparación de medianas, de los promedios de crecimiento micelial (mm) se observan 5 niveles de agrupamientos entre los tratamientos estudiados. Dicha prueba indica que el tratamiento T2 extracto acuoso de canela al 20% y T3 extracto acuoso de canela al 30% son estadísticamente superior al resto de los tratamientos. Estos datos obtenidos son similares a los reportados Torres (2021) los cuales indican que extracto etanolico de canela al 3%,4% y 5% inhibieron el crecimiento micelial de *M. roleri* a nivel in vitro.

Le siguen en orden de eficacia los tratamientos T6 - T5-T4 a base de extracto acuoso de ruda , los cuales son estadisticamente diferentes al testigo. Segun Arcos, Martinez, Ortiz, & Avendaño, (2019) evidenciaron en su investigacion que el extracto ruda inhibio el crecimiento micelial del hongo *M. roleri* en un 57 % a nivel in vitro.

Por ultimo los tratamientos T8-T1-T9 y T7 presentaron un menor efecto antifungico como se puede observar en el cuadro 4 test de rangos, son estadisticamente diferentes al T10 (testigo absoluto) , es decir si tuvieron un efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial del hongo *M. roleri*.

5. CONCLUSIONES

- En condiciones controladas de laboratorio, los tratamientos que presentaron mayor efecto inhibitorio son el tratamiento T2 extracto acuoso de canela al 20% y el T3 extracto acuoso de canela al 30%, ambos son estadísticamente iguales y diferentes al resto de tratamientos.
- Le siguen en orden de eficacia los tratamientos que son a base de extracto acuoso ruda T4-T5-T6 en diferentes concentraciones.
- Se observa que la combinación de extractos acuoso de ruda y canela, disminuye el efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial del hongo *M. roreri* a nivel *in vitro*.

6. RECOMENDACIONES

- Dado los resultados bastante satisfactorios del extracto acuoso de canela, probar en futuras investigaciones diferentes tipos de extracto y concentraciones.
- Se recomienda realizar aplicaciones en campo, para evaluar la inhibición del hongo *M. roleri* dentro de las plantaciones de cacao.
- Realizar estudios enfocados en extractos botánicos con potencial antifúngico, como una alternativa de control en el manejo de enfermedades causadas por hongos fitopatógenos, en base a una agricultura sustentable que minimice el impacto ambiental.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Alegre, A., Bonifaz, E., Solange, S., & Iannacone, J. (2017). SENSITIVITY OF TWO BIOCONTROLLERS CHRYSOPERLA EXTERNA AND CHRYSOPERLA CARNEA (NEUROPTERA: CHRYSOPIDAE) AGAINST AQUEOUS EXTRACT OF RUTA GRAVEOLENS (RUTACEAE). *The Biologist (Lima)*15(1), 173-180.
- Andrade, G., García, A., Cervantes, L., Aíl, C., Borboa, J., & Rueda, E. (2017). Estudio del potencial biocontrolador de las plantas autóctonas de la zona árida del noroeste de México: control de fitopatógenos. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 127-142.
- Anzules, V., Borjas, R., Alvarado, L., Castro, V., & Julca, A. (2019). Control cultural, biológico y químico de *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* spp en *Theobroma cacao* 'CCN-51'. *Scientia Agropecuaria vol.10*, 511-520.
- Aragón, S., & Beltrán, C. (2018). Los hongos endófitos en el control biológico de fitopatógenos e insectos plaga. En AGROSAVIA, *Control biológico de fitopatógenos, insectos y acaros: Agentes de control biológico* (págs. 854-877). COLOMBIA: AGROSAVIA.
- Armas Caballero, C., Márquez Villacorta, L., & Pretell Vásquez, C. (2011). Efecto del aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y su combinación sobre la acción antifúngica en *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz (*Zea mays* L.), variedad morado. *Pueblo cont.* 22(1), 123-132.
- Bañuelos, R., Delgadillo, L., Echavarría, F., Delgadillo, O., & Meza, C. (2018). Composición química y FTIR de extractos etanólicos de *Larrea tridentata*, *Origanum vulgare*, *Artemisa ludoviciana* y *Ruta graveolens*. *Agrociencia vol.52 no.3*, 309-321.
- Boiteux, J., Vanda, M., Fernández, M., Lucero, G., & Pizzuolo, P. (2015). Efecto del extracto acuoso de chañar (*Geoffroea decorticans* Burkart) sobre *Botrytis cinerea* como posible alternativa para su control durante poscosecha de uva de mesa. *Rev. FCA UNCUYO* 47(1), 241-250.
- Cedeño Mesía, P. A. (2019). Principales tipos de mercados para la comercialización del cacao (*Theobroma cacao* L.) en el cantón Vinces. *tesis de grado (ingeniero agronomo)*. Universidad técnica de Babahoyo, BABAHOYO - LOS RÍOS.
- Chávez, G., Olaya, R., & Maza, J. (2018). COSTO DE PRODUCCION DE CACAO CLONAL CCN-51 EN LA PARROQUIA. *Universidad y Sociedad*, 10(4), 179-185.

- León Villamar, F., Calderón Salazar, J., & Mayorga Quinteros, E. (2016). Estrategias para el cultivo, comercialización y exportación del cacao fino de aroma en Ecuador. *Revista Ciencia UNEMI* , 45- 55.
- Sánchez Mora, F., & Garcés Fiallos, F. (2012). Moniliophthora roreri (Cif y Par) Evans et al. en el cultivo de cacao. *Scientia Agropecuaria*, vol. 3, núm. 3, 249-258.
- Tenorio Ordoñez, N. (2020). Efecto de tres extractos vegetales (cola de caballo, diente de león y ruda) para la inhibición del crecimiento de Fusarium oxysporum. *Tesis de grado(Ingeniería en Agroempresas)*. UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ, QUITO.
- Torres de la Cruz, M., Ortiz, C., Téliz , D., Mora, A., & Nava, C. (2013). Efecto del Azoxystrobin Sobre Moniliophthora roreri, Agente Causal de la Moniliasis del Cacao (Theobroma cacao). *Revista mexicana de fitopatología* 31, 65-69.
- Abad, M., Alvarado, A., & Gallardo, A. (2018). Análisis comparativo sobre la incidencia de las tres principales enfermedades en el cacao CCN-51, en el cantón La Troncal, provincia del Cañar, Ecuador. *Rev. Cient. Cien. Nat. Ambien.* 12(1), 20-30.
- Arcos, M., Martínez, L., Ortiz, G., Martínez, M., & Avendaño, C. (2019). Efecto in vitro de extractos vegetales contra la moniliasis (Moniliophthora roreri) del cacao (Theobroma cacao L.). *Agricultura Tropical*, 5(1), 19-24.
- Arvelo, M., González, D., Delgado , T., Maroto, S., & Montoya, P. (2017). *ESTADO ACTUAL SOBRE LA PRODUCCIÓN, EL COMERCIO Y CULTIVO DEL CACAO EN AMÉRICA*. Mexico : IICA.
- Arvelo, M., González, D., Maroto, S., Delgado, T., & Montoya, P. (2017). *Manual técnico del cultivo de cacao: prácticas latinoamericanas*. San Jose -Costa Rica : IICA.
- Barrezueta, S., Prado, E., & Jimbo, R. (2017). Características Del Comercio De Cacao A Nivel Intermediario En La Provincia De El Oro-Ecuador. *European Scientific Journal Vol.13*, 273-282.
- Bernal , J. (2021). EVALUACIÓN DE EXTRACTOS ETANOLICOS DE MANZANILLA, AJO, LLANTÉN, ORÉGANO, RUDA EN EL CONTROL DE MONILIOPTHORA RORERI A NIVEL IN VITRO. *tesis de grado (ingeniero agronomo)*. UTMACH, MACHALA- ECUADOR.
- Bonilla , P., Toche , A., Fernández , G., Curioso , D., Rayme , R., Soto, E., . . . Venegas , G. (2020). Composición química y caracterización de flavonoides de extractos metanólicos de hojas de dos tipos de Ruta chalepensis L. *Revista Peruana de Medicina Integrativa*, 100-109.
- Bonilla, J., Zamarripa Colmenero, A., Pecina , V., Garrido , E., & Hernández, E. (2015). Evaluación agronómica de híbridos de cacao (Theobroma cacao L.)

- para selección de alto rendimiento y resistencia en campo a moniliasis. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Vol.6 Núm.1*, 71- 82.
- Carrera, K., Herrera, L., Díaz, M., & Leiva, M. (2016). Micobiota asociada a frutos de cacao con síntomas de moniliasis en la amazonía ecuatoriana. *Centro Agrícola*, 43 (1), 48-54.
- Celis, A., Mendoza, C., & Pachón, M. (2009). uso de extractos vegetales en el manejo integrado de plagas, enfermedades y arvences. *Temas Agrarios 14(1)*, 5-16.
- Correa , J., Castro, S., & Coy, J. (2014). Estado de la moniliasis del cacao causada por *Moniliophthora roreri* en Colombia. *Acta Agron. vol.63 no.4*, 388-399.
- Correa Álvarez, J., Castro Martínez , S., & Coy, J. (2014). Estado de la moniliasis del cacao causada por *Moniliophthora roreri* en Colombia. *Acta Agronómica. 63* , 388-399.
- De la Cruz-Ricardez, Lagunes-Espinoza, Ortiz-García, C. F., & Pérez, P. (2016). ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA in vitro DEL EXTRACTO ACUOSO Y ALCALOIDEO DE *Lupinus spp.* SOBRE *Moniliophthora roreri*. *Agroproductividad: Vol. 9, Núm. 12*, 3-9.
- (2016). *ESCOBA DE BRUJA DEL CACAO*. Mexico: SENASICA.
- González, M., Paredes, V., Erazo, F., & Sánchez, T. (2019). Evaluación “in vitro” de la Actividad Antifungica del Aceite Esencial de Canela (*Cinnamomum zeylanicum*) Sobre *Botrytis sp* Aislado de Mora de Castilla (*Rubus glaucus*). *European Scientific Journal Vol.15*, 377-393.
- Guerrero, R., Cevallos, O., Eguez, E., & Peñaherrera, S. (2020). El potencial del uso de microorganismos endofíticos como agentes de control de enfermedades en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao L.*). *Centrosur*, 1-18.
- Hernández , E., Hernández, J., Avendaño, C., López, G., Garrido, E., Romero, J., & Nava , C. (2015). Factores socioeconómicos y parasitológicos que limitan la producción del cacao en Chiapas, México. *Revista Mexicana de FITOPATOLOGÍA*, 232-246.
- INTAGRI. (2020). *Cultivo de Cacao en México*. MEXICO: INTAGRI.
- Martel Pariona, S., & Vila Santiago, A. (2019). Principales enfermedades de los frutos del cacao en el valle de los ríos Apurímac, Ene y Mantaro-Perú. *Academia*, 2-18.
- Martínez , E., & Pérez, L. (2015). Incidencia de enfermedades fúngicas en plantaciones de cacao de las provincias orientales de Cuba. *Rev. Protección Veg. vol.30*, 87-96.

- Mesa , A., Ocampo, O., Monsalve, Z., Marín, P., & Calle, J. (2019). Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos. *RIA / Vol. 45 / N.º 1*, 23-30.
- Morales, F., Carrillo, M., Ferreira, J., Peña, M., Briones, W., & Albán, M. (2018). Cadena de comercialización del cacao nacional en la provincia de Los Ríos, Ecuador. *Ciencia y Tecnología*, 63-69.
- Ortíz, C., Torres, M., & Hernández, S. (2015). COMPARACIÓN DE DOS SISTEMAS DE MANEJO DEL CULTIVO DEL CACAO, EN PRESENCIA DE *Moniliophthora roreri*, EN MÉXICO. *Revista fitotecnia mexicana*, 38(2), 191-196.
- Pérez Vicente, L. (2018). *Moniliophthora roreri* H.C. Evans et al. y *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime: impacto, síntomas, diagnóstico, epidemiología y manejo. *Rev. Protección Veg.*, Vol. 33, 2-13.
- Pérez, G., Chimborazo, C., & Freile, J. (2015). Caracterización in situ de la variabilidad morfológica del cacao (*Theobroma cacao* L.) de la Provincia de Pastaza. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología Volumen 4 N° 2*, 147-165.
- Romero, R., Morales, P., Pino, O., Cermeli, M., & González, E. (2015). Actividad insecticida de seis extractos etanólicos de plantas sobre mosca blanca. *Rev. Protección Veg. Vol. 30*, 11-16.
- Rueda, I., Colorado, R., Salas, E., Muñoz, L., & Hernández, L. (2013). Actividad Antifúngica in vitro de Extractos Acuosa de Especies contra *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium digitatum* y *Aspergillus niger*. *REVISTA MEXICANA DE FITOPATOLOGÍA* volume 31,(2), 105-112.
- Sánchez , M., Jaramillo, E., & Ramírez, I. (2015). *Enfermedades del cacao*. Machala- EL oro: Utmach.
- Sánchez, V., Zambrano, J., & Iglesias, C. (2019). *La cadena de valor del cacao en América Latina y el Caribe*. Quito- Ecuador : INIAP-Estación Experimental Santa Catalina.
- SENASICA. (2016). Escoba de bruja del cacao (*Moniliophthora perniciosa*). *Dirección General de Sanidad Vegetal Programa de Vigilancia Epidemiológica*, 4-21.
- Silva Pérez, E. (2015). RESISTENCIA Y COMPUESTOS ANTIESPORULANTES EN EL MANEJO DE LA MONILIASIS (*Moniliophthora roreri* Cip y Par) Evans et al. EN EL CULTIVO DE CACAO ORGÁNICO- MORROPÓN". *Tesis de Grado(Ingeniero Agronomo)*. Universidad Nacional de Piura, Piura-Peru.
- Solís , J., Zamarripa, A., Pecina, V., Garrido, E., & Hernández, E. (2015). Evaluación agronómica de híbridos de cacao (*Theobroma cacao* L.) para

selección de alto rendimiento y resistencia en campo a moniliasis. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* Vol.6, 71-82.

Suárez, Y., & Hernández, F. (2010). *MANEJO DE LAS ENFERMEDADES DEL CACAO (Theobroma cacao L) EN COLOMBIA, CON ÉNFASIS EN MONILIA (Moniliophthora roreri)*. Colombia : Corpoica.

Torres, P. (2021). *EVALUACIÓN DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE CANELA EN EL CONTROL DE LA MONILIOPHTHORA RORERI EN CACAO A NIVEL IN VITRO. TRABAJO TITULACIÓN (Ingeniera Agronoma)*. UTMACH, Machala-El Oro.

Vicepresidencia, S. T. (2015). *Diagnóstico de la Cadena Productiva del Cacao en el Ecuador*.

Villacís, L., León, O., Santana, R., Mangui, J., Carranza , G., & Pazmiño, P. (2017). *Actividad anti fúngica (in vitro) de extractos vegetales para el control de antracnosis (Colletotrichum acutatum)*. *J Selva Andina Biosph* 5(1), 59-64.

ANEXOS

Anexo 1. Preparación de medio de cultivo (PDA)



Anexo 2. Aislamiento y purificación del hongo



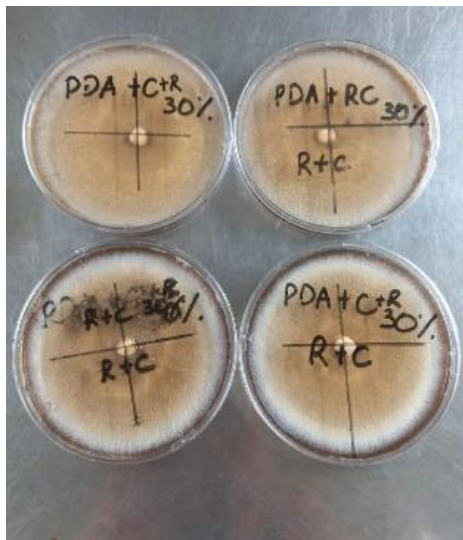
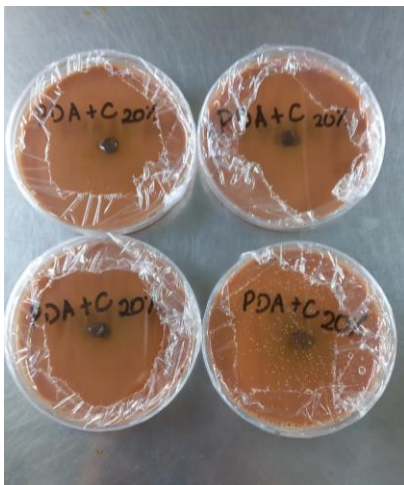
Anexo 3. Elaboración de extractos



Anexo 4. Plaqueo y siembra de tratamientos



Anexo 5. Crecimiento micelial de los tratamientos



Anexo 6. Anova paramétrico (dca) con datos originales

Nueva tabla : 31/8/2021 - 13:57:22 - [Versión : 30/4/2020]

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
AUDPC	40	0.93	0.91	20.20

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8685.68	9	965.08	46.74	<0.0001
TRATAMIENTOS	8685.68	9	965.08	46.74	<0.0001
Error	619.48	30	20.65		
Total	9305.17	39			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=10.96086

Error: 20.6495 gl: 30

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.				
T2	0.00	4	2.27	A			
T3	0.00	4	2.27	A			
T6	9.30	4	2.27	A	B		
T5	17.24	4	2.27		B	C	
T4	22.10	4	2.27			C	
T8	25.81	4	2.27			C	D
T1	34.34	4	2.27				D
T9	36.55	4	2.27				D
T7	37.90	4	2.27				E
T10	41.76	4	2.27				E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Nueva tabla : 31/8/2021 - 14:12:37 - [Versión : 30/4/2020]

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS AUDPC	40	0.83	0.78	78.31

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	380.11	9	42.23	16.80	<0.0001
TRATAMIENTOS	380.11	9	42.23	16.80	<0.0001
Error	75.42	30	2.51		
Total	455.53	39			

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO AUDPC	40	0.00	3.99	0.82	<0.0001

Anexo 7. Anova con datos Transformados

AUDPC_TRANSFORMADOS (RAIZ CUADRADA + 1)

Nueva tabla : 1/9/2021 - 10:01:33 - [Versión : 30/4/2020]

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
AUDPC transf	40	0.97	0.96	9.01

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	209.74	9	23.30	108.79	<0.0001
TRATAMIENTOS	209.74	9	23.30	108.79	<0.0001
Error	6.43	30	0.21		
Total	216.17	39			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=1.11638

Error: 0.2142 gl: 30

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.				
T2	1.00	4	0.23	A			
T3	1.00	4	0.23	A			
T6	4.05	4	0.23		B		
T5	5.15	4	0.23		B	C	
T4	5.70	4	0.23			C	
T8	5.94	4	0.23			C	D
T1	6.86	4	0.23				D
T9	7.04	4	0.23				D
T7	7.16	4	0.23				E
T10	7.46	4	0.23				E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Nueva tabla : 1/9/2021 - 10:05:48 - [Versión : 30/4/2020]

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO AUDPC transf	40		0.00	0.41	0.79

PRUEBA DE LEVENE

Nueva tabla : 1/9/2021 - 10:07:36 - [Versión : 30/4/2020]

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS AUDPC transf	40	0.82	0.77	84.09

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3.95	9	0.44	15.31	<0.0001
TRATAMIENTOS	3.95	9	0.44	15.31	<0.0001
Error	0.86	30	0.03		
Total	4.81	39			