



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

EVALUACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSOS DE MANZANILLA Y
CANELA SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL DE MONILIOPTHORA
RORERI A NIVEL IN VITRO

SANCHEZ VIDAL JEFFERSON ORLANDO
INGENIERO AGRÓNOMO

MACHALA
2022



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA AGRÓNOMICA

EVALUACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSOS DE MANZANILLA Y
CANELA SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL DE
MONILIOPTHORA RORERI A NIVEL IN VITRO

SANCHEZ VIDAL JEFFERSON ORLANDO
INGENIERO AGRÓNOMO

MACHALA
2022



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA AGRÓNOMICA

TRABAJO TITULACIÓN
TRABAJO EXPERIMENTAL

EVALUACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSOS DE MANZANILLA Y CANELA SOBRE
EL CRECIMIENTO MICELIAL DE MONILIOPTHORA RORERI A NIVEL IN VITRO

SANCHEZ VIDAL JEFFERSON ORLANDO
INGENIERO AGRÓNOMO

JARAMILLO AGUILAR EDWIN EDISON

MACHALA, 23 DE FEBRERO DE 2022

MACHALA
2022

EVALUACION DE EXTRACTOS DE MANZANILLA Y CANELA

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, SANCHEZ VIDAL JEFFERSON ORLANDO, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado EVALUACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSOS DE MANZANILLA Y CANELA SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL DE MONILIOPTHORA 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, 23 de febrero de 2022


SANCHEZ VIDAL JEFFERSON ORLANDO
0706750098

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada:

A Dios quien ha sido mi guía, fortaleza y su mano de fidelidad y amor han estado conmigo hasta el día de hoy.

A mis padres quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer las adversidades porque Dios está conmigo siempre.

A mi hermana por su cariño y apoyo incondicional, durante todo este proceso, por estar conmigo en todo momento gracias. A toda mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas.

Finalmente quiero dedicar esta tesis a todos mis amigos, por apoyarme cuando más los necesito, por extender su mano en momentos difíciles y por el amor brindado cada día.

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi gratitud a Dios, quien con su bendición llena siempre mi vida y a toda mi familia por estar siempre presentes.

También deseo pronunciar mi agradecimiento a mi asesor de mi tesis Ing. Agr. Edison Jaramillo Aguilar. Mg, Sc, por la dedicación y apoyo que ha brindado a este trabajo, por el respeto a mis sugerencias e ideas y por la dirección y el rigor que ha facilitado a las mismas.

De igual manera mi agradecimiento al Ing. Agr. Jhon Fernando Bernal Morales, por el apoyo incondicional, quien con la enseñanza de sus valiosos conocimientos hicieron que pueda crecer en mi etapa como profesional.

Mi gratitud, también a la Facultad de Ciencias Agropecuarias, y cada docente quienes con su apoyo y enseñanzas constituyen la base de mi vida profesional.

EVALUACIÓN DE LA COMBINACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSOS DE Manzanilla (*Chamaemelum nobile*) Y Canela (*Cinnamomum verum*) SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL DE MONILIOPTHORA RORERI A NIVEL IN VITRO.

Autor

Jefferson Orlando Sánchez Vidal

Tutor

Ing. Edison Jaramillo

RESUMEN

La planta de cacao es un árbol, que se desarrolla en zonas tropicales con alta humedad, su crecimiento se expande geográficamente en distintas regiones en el mundo. El continente americano abarca con una gran diversidad de plantaciones del género *Theobroma*, perteneciente a la familia *Malvaceae*. A nivel mundial se exportan alrededor de 3,3 millones de toneladas de cacao, siendo el continente africano el principal productor con el 66% de la producción, seguido de Asia con un 17,5% y América que en los últimos años llegó a 11% de la producción mundial siendo Ecuador y Brasil los mayores productores. En el Ecuador las provincias con mayor producción de cacao son Los Ríos, Guayas, Manabí, Esmeralda y El Oro. Las principales enfermedades que afectan al cultivo de cacao son Mazorca negra, Moniliasis y Escoba de bruja, para combatir estas enfermedades se aplican controles químicos, biológicos y culturales, como una nueva alternativa de control se planteó el uso de extractos botánicos para inhibir el crecimiento micelial de *Moniliophthora roreri* agente causal de la enfermedad moniliasis. La investigación se realizó en la Universidad Técnica de Machala en el laboratorio de fitopatología, La primera fase del experimento comenzó, con el aislamiento y purificación del hongo en el jardín clonal de la (UTMACH), donde se extrajeron mazorcas de variedad CCN-51. El material vegetal del cual se extrajo los extractos de las plantas de manzanilla y canela por su alto contenido de metabolitos secundarios. Los tratamientos a

evaluar fueron los siguientes: T1(extracto acuoso de canela al 10%); T2(extracto acuoso de canela al 20%); T3 (extracto acuoso de canela al 30%); T4(extracto acuoso de Manzanilla al 10%); T5(extracto acuoso de Manzanilla al 20%); T6 (extracto acuoso de manzanilla al 30%); T7(extracto acuoso de manzanilla-canela al 10%); T8 (extracto acuoso de Manzanilla-canela al 20%); T9 (extracto acuoso de manzanilla-canela al 30%); T10(testigo absoluto), estos fueron los tratamientos empleados con sus dosis correspondientes. Para la preparación de los extractos *se usó tres matraces de Erlenmeyer donde colocamos todo el material fresco de las diferentes plantas, se depositó en cada recipiente 60gr de manzanilla/300ml de agua destilada, 60gr de canela/300ml de agua destilada y una combinación de 30gr de canela - 30gr de manzanilla /300ml de agua destilada, la relación final peso/volumen fue de 1:5.* La dosificación de los tratamientos se realizó, en 10 botellas de vidrio con medidas establecidas de 70- 80- 90- ml de pda, se colocó 10-20-30 ml de extracto de manzanilla, canela y combinado (canela/manzanilla), y el testigo una botella con 100 ml de PDA para evidenciar la diferencia significativa de los tratamientos en relación al testigo.*En condiciones controladas de laboratorio los tratamientos que presentaron mayor efecto inhibitorio T3 (extracto acuoso de canela al 30%), T2(extracto acuoso de canela al 20%) y el T9 (extracto acuoso de manzanilla-canela al 30%), son estadísticamente iguales y diferentes al resto de tratamientos, finalmente se recomienda realizar estudios enfocados en el uso de extractos botánicos con potencial antifúngico, como una alternativa de control en el manejo de enfermedades ocasionadas por hongos fitopatógenos, en base a una agricultura orgánica que sea amigable con el medio ambiente.*

Palabras Claves: Moniliasis, metabolitos secundarios, fitopatógenos

EVALUATION OF THE COMBINATION OF AQUEOUS EXTRACTS OF CHAMOMILE (*Chamaemelum nobile*) AND CINNAMON (*Cinnamomum verum*) ON THE MYCELIAL GROWTH OF *MONILIOPTHORA RORERI* AT IN VITRO LEVEL.

Author

Jefferson Orlando Sánchez Vidal

Tutor

Ing. Edison Jaramillo

ABSTRACT

The cocoa plant is a tree that develops in tropical areas with high humidity, its growth expands geographically in different regions of the world. The American continent encompasses a great diversity of plantations of the *Theobroma* genus, belonging to the Malvaceae family. Around 3.3 million tons of cocoa are exported worldwide, with the African continent being the main producer with 66% of the production. , followed by Asia with 17.5% and America, which in recent years reached 11% of world production, with Ecuador and Brazil being the largest producers. In Ecuador, the provinces with the highest cocoa production are Los Ríos, Guayas, Manabí, Esmeralda and El Oro. The main diseases that affect cocoa cultivation are Black Mazorca, Moniliasis and Witch's Broom, to combat these diseases chemical controls are applied. , biological and cultural, as a new control alternative, the use of botanical extracts was planted to inhibit the mycelial growth of *Moniliophthora roreri*, the causal agent of the moniliasis disease. The research was carried out at the Technical University of Machala in the phytopathology laboratory. The first phase of the experiment began with the isolation and purification of the fungus in the clonal garden of the (UTMACH), where cobs of the CCN-51 variety were extracted. The plant material from which the extracts of the chamomile and cinnamon plants were extracted due to their high content of secondary metabolites. The

treatments to be evaluated were the following: T1 (aqueous extract of cinnamon at 10%); T2 (aqueous extract of cinnamon at 20%); T3 (aqueous extract of cinnamon at 30%); T4 (aqueous extract of Chamomile at 10%); T5 (aqueous extract of Chamomile at 20%); T6 (aqueous extract of chamomile at 30%); T7 (aqueous extract of camomile-cinnamon at 10%); T8 (aqueous extract of Camomile-cinnamon at 20%); T9 (30% camomile-cinnamon aqueous extract); T10 (absolute control), these were the treatments used with their corresponding doses. For the preparation of the extracts, three Erlenmeyer flasks were used where we placed all the fresh material of the different plants, 60g of chamomile/300ml of distilled water, 60g of cinnamon/300ml of distilled water and a combination of 30g of cinnamon - 30gr of chamomile / 300ml of distilled water, the final weight/volume ratio was 1:5. The dosage of the treatments was carried out, in 10 glass bottles with established measures of 70-80-90- ml of pda, 10-20-30 ml of extract of chamomile, cinnamon and combined (cinnamon/chamomile) were placed, and the control a bottle with 100 ml of PDA to show the significant difference of the treatments in relation to the control. Under controlled laboratory conditions, the treatments that presented the greatest inhibitory effect T3 (aqueous extract of cinnamon at 30%), T2 (aqueous extract of cinnamon at 20%) and T9 (aqueous extract of chamomile-cinnamon at 30%), are statistically the same and different from the rest of treatments, finally it is recommended to carry out studies focused on the use of botanical extracts with antifungal potential, as an alternative of control in the management of diseases caused by phytopathogenic fungi, based on organic agriculture that is friendly to the environment.

Keywords: Moniliasis, secondary metabolites, phytopathogens

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	14
2. MARCO TEÓRICO	17
2.1. Origen.....	17
2.2. Taxonomía.....	17
2.3. Descripción Botánica	18
2.4. Producción.....	19
2.4.1. Mundial	19
2.4.2. Nacional	19
2.5. Principales enfermedades que afectan al cultivo del cacao.....	19
2.5.1. Mazorca negra.....	19
2.5.2. Escoba de bruja.....	20
2.5.3. Monilia.....	21
2.5.4. Taxonomía	22
2.5.5. Sintomatología	22
2.5.6. Ciclo de enfermedad	23
2.5.7. Tipo de controles.....	24
2.6. Efecto de extractos vegetales en control fúngico de enfermedades	25
2.6.1. Manzanilla.....	26
2.6.2. Canela	26
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
3.1. Ubicación	27
3.2. Materiales y equipo	27
3.2.1. Equipos de laboratorio	27
3.2.2. Materiales de laboratorio	27
3.2.3. Material Vegetal.....	28
3.3. Metodología	28
3.3.1. Aislamiento y purificación del hongo <i>M. roleri</i>	28
3.3.2. Preparación de medio de cultivo PDA.....	28
3.3.3. Preparación de extractos acuosos.....	29
3.3.4. Siembra del hongo	30
3.4. Tratamientos de extractos.....	31

3.5.	Análisis estadístico	31
3.5.1.	Diseño completamente al azar (DCA)	31
3.5.2.	Prueba de Kruskal-Wallis	32
3.5.3.	Variable de estudio	32
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
5.	CONCLUSIONES	35
6.	RECOMENDACIONES	36
	Bibliografía	37

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Taxonomía del Cacao	177
Cuadro 2.	Taxonomía de <i>Moniliophthora roreri</i>	222
Cuadro 3.	Prueba de Kruskal Wallis	33
Cuadro 4.	Comparación de rangos medianas	33

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Tratamientos de extractos aplicados en el control micelial del hongo <i>M. roreri</i>	31
----------	---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura. 1	Partes del árbol de cacao	188
Figura. 2	Sintomatología de Mazorca negra	20
Figura. 3	Sintomatología de Escoba de bruja	20
Figura. 4	Sintomatología de Moniliasis	23
Figura. 5	Ciclo de vida de <i>Moniliophthora roreri</i> (Cif y Par)	24

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Preparación de medio de cultivo (PDA)	41
Anexo 2.	Aislamiento y purificación del hongo	42
Anexo 3.	Elaboración de extractos	42
Anexo 4.	Crecimiento micelial de los tratamientos	43

1. INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao L.*) es originaria de América significa “comida de los dioses”, es un árbol del genero *Theobroma*, de la familia de las Malváceae, la cual cuenta con más de 22 especies. Se dice que los mayas cultivaban el cacao, y la pepa era utilizada como moneda, su consumo era reservado solo para los considerados de la alta sociedad, preparaban una bebida llamada “xocoatl” de donde se presume que tomo el nombre de chocolate (León, Calderón, & Mayorga, 2016).

La producción de cacao a nivel mundial, es de 4.3 millones de toneladas anualmente las cuales están distribuidas de la siguiente manera: 74.9% concentrado en África Occidental, 12.1% en el sureste asiático, 13% en América latina y el 35% de la producción mundial es Costa de Marfil (Solís , Zamarripa, Pecina, Garrido , & Hernández, 2015).

Brasil, Ecuador, Perú, Colombia, Venezuela, y Trinidad & Tobago, son los principales productores de cacao en América Latina. Los destinos primordiales de cacao ecuatoriano son América (54%), Europa (29%) y Asia (17%); a nivel mundial Ecuador es líder en producción del cacao de origen “Arriba” con el 61% del mercado mundial. En el ecuador el sector cacaotero creció en un 10% y las exportaciones alcanzaron 260 mil toneladas métricas (87% grano y 13% productos derivados) (Moreno, Molina, Miranda, Moreno, & Moreno, 2020).

La producción de cacao se localiza en 23 de las 24 provincias, Esmeraldas, Manabí, Pichincha y Cotopaxi ocupan 80.000 ha sembradas en la zona norte, en la zona sur corresponde unas 80.000 ha establecidas en la provincia El Oro y el sur de la provincia de Guayas; en las provincias de Bolívar, Chimborazo, Cañar y Azuay existen unas 13.000ha y en la Amazonía unas 6.000ha (Sánchez , Jaramillo , & Ramírez , Enfermedades del Cacao, 2015). 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). 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 exportó 236,677 toneladas de cacao en grano, de las cuales 165,673 fueron de calidad fino y de aroma (Morales, y otros, 2018).

En América laticas las principales enfermedades que atacan a las plantaciones de cacao son: la escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*) y la moniliasis (*Moniliophthora roreri*, en el Ecuador la escoba de bruja afectó un 60 a 70% de la producción, y la moniliasis provocó pérdidas hasta de un 80% en plantaciones cacaoteras, convirtiéndose en la principal amenaza para los productores de cacao (Sanchez , y otros, 2015).

La moniliasis del cacao es una enfermedad causada por el hongo (*Moniliophthora roreri*), esta enfermedad se originó en el noreste de Colombia y en el Ecuador fue detectada por primera vez en el año 1917. 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 (Correa , Castro, & Coy, Estado de la moniliasis del cacao causada por *Moniliophthora roreri* en Colombia, 2014).

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. roreri* en plantaciones cacaoteras. Varios estudios reportaron la reducción de moniliasis de un 40% aplicando un manejo integrado compuesto de podas y raleos fitosanitarios. La aplicación de este conjunto de controles ayuda a disminuir la incidencia de la moniliasis en el cacao (Anzules, Borjas, Alvarado, Castro, & Julca, Control cultural, biológico y químico de *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* spp en *Theobroma cacao* ‘CCN-51’, 2019).

Los extractos vegetales son una alternativa de agricultura sostenible, debido a su efectividad para el control de plagas, enfermedades y arvenses. Su principal característica es la presencia de metabolitos secundarios los cuales forman estrategias defensivas de las plantas agrupándose en compuestos nitrogenados, fenólicos y terpenoides. se considera que existe alrededor de

3.000 compuestos naturales de origen vegetal que han demostrado actividad fungicida, bactericida, insecticida repelente y nematocida. (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 manzanilla y canela en diferentes dosificaciones para el control micelial del hongo *M. roreri* a nivel in vitro.

Objetivo general

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

Objetivo específico

- Evaluar el crecimiento radial del hongo fitopatógenos (*Moniliophthora roreri*) en los diferentes tratamientos a través del tiempo.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Origen

En el mundo existe una teoría sobre el origen de la domesticación del cacao, que sostiene que se situaba geográficamente en Mesoamérica, comprendida entre los países de México, Guatemala y Honduras, en esos lugares se encontraron rastros de cacao de aproximadamente 2,000 años antes de cristo. Actualmente varias investigaciones expusieron resultados donde demuestran que en la Amazonia existen una o más variedades de *Theobroma cacao* que han sido utilizadas en la región durante los últimos 5,000 años (Lanaud, Loor, Zarrillo, & Valdez, 2012).

La planta de cacao es un árbol, que se desarrolla en zonas tropicales con alta humedad, su crecimiento se expande geográficamente en distintas regiones en el mundo. El continente americano abarca con una gran diversidad de plantaciones del genero *Theobroma*, perteneciente a la familia *Malvaceae*, se encontraron numerosas especies 19 situadas en América del sur Y 13 en la cuenca del Amazonas (Pérez, y otros, 2021).

2.2. Taxonomía

Según (Arvelo, González, Maroto, Delgado, & Montoya, Manual técnico del cultivo de cacao: prácticas latinoamericanas, 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

Theobroma cacao L. pertenece a la familia malvácea y subfamilia sterculioideae son arboles ramificados de hojas simples y un fruto carnoso (mazorca), se desarrollan en lugares tropicales húmedos, tienen un tallo principal de uno a dos metros de altura, sus hojas son ovadas ligeramente asimétricas tiene un color verde oscuro en el haz, sus flores son hermafroditas, el fruto es una baya grande esférico de color púrpura o amarillo compuesto por endocarpio de cuatro a ocho mm, las semillas son café-rojizas con medidas de 20,30 y 50 mm de largo (Arvelo, González, Maroto, Delgado, & Montoya, Manual técnico del cultivo de cacao: prácticas latinoamericanas, 2017).

Figura. 1 Partes del árbol de cacao



Fuente: (Florflores, 2019)

2.4. Producción

2.4.1. Mundial

A nivel mundial se exportan alrededor de 3,3 millones de toneladas de cacao, siendo el continente africano el principal productor con el 66% de la producción, los países más representativos al producir cacao son los países de Costa de Marfil, Ghana, Nigeria y Camerún, seguido de Asia con un 17,5% y América que en los últimos años llegó a 11% de la producción mundial siendo Ecuador y Brasil los mayores productores (Víctor, Zambrano, & Iglesias, 2019).

En el mundo el cacao se lo comercializa en diferentes maneras grano seco, torta, pasta, manteca polvo y chocolates. Los países con más demanda de consumo de cacao y sus diferentes derivados son Estados Unidos (20%), Alemania (9%), Francia (6%), Reino Unido (6%), Brasil (5%), Rusia (5%) y Japón (4%) (Gamboa, Rodríguez, Gamboa, Durán, & Rojas, 2021).

2.4.2. Nacional

En el Ecuador el 95% de la producción de cacao la lideran los pequeños productores, que tienen una superficie de siembra menor a tres hectáreas (Barrezueta, Prado, & Jimbo, 2017). Las provincias con mayor producción de cacao son Los Ríos, Guayas, Manabí, Esmeralda y El Oro ocupan una superficie alrededor de 500 mil hectáreas distribuidas geográficamente en la región (Perez, Chimborazo, & Freile, 2015).

Los diferentes cultivares de cacao que se produce en el Ecuador son el Cacao Arriba y el CCN-51, se encuentran distribuido en diferentes provincias que están destinada para la exportación, a nivel mundial Ecuador cumple con la demanda del 70% de la producción de cacao fino a los diferentes mercados internacionales (Chávez, Olaya, & Maza, 2018).

2.5. Principales enfermedades que afectan al cultivo del cacao

2.5.1. Mazorca negra

La enfermedad mazorca negra, pertenece al género *Phytophthora* que abarca muchas especies que son la principal causa de la enfermedad en el cultivo de cacao. El agente causal

de la mazorca negra es *P. palmivora*, que provoca daños en plantaciones que van desde un 30% hasta un 60% en los cultivares de cacao (Anzules , Borjas, Alvarado, Castro, & Julca, Control cultural, biológico y químico de *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* spp en *Theobroma cacao* ‘CCN-51, 2019). La sintomatología más común de la enfermedad, es provocar lesiones de color marrón en todo el fruto, el patógeno ataca al tejido interno causando la pudrición de las semillas , dejando con una coloración negra y momificada las mazorcas, para el control de la enfermedad es recomendable la aplicación de fungicidas a base de cobre , complementado por labores fitosanitarias como la remoción de mazorcas enfermas (Sánchez, Jaramillo , & Ramírez, Enfermedades del Cacao, 2015).

Figura. 2 Sintomatología de Mazorca negra



Fuente: (Martel & Vila, 2019)

2.5.2. Escoba de bruja

La enfermedad escoba de bruja es una de las más dañinas en el cultivo de cacao, su agente causal es el hongo *Moniliophthora perniciosa*. Se encuentra distribuida en varias regiones de América del sur y Centroamérica, los primeros síntomas luego de la infección comienzan con la aparición de lesiones y crecimientos anormales en las ramas, brotes, cojines florales y frutos. La propagación de la enfermedad se da por medios de tejidos como semillas, plántulas y frutos, en un ambiente con alta humedad se desarrollan las esporas y penetran los tejidos jóvenes a través de estomas y epidermis (Martel Pariona & Vila Santiago, 2019). El control con mejores resultados para reducir la incidencia del patógeno en el cultivo de cacao , es el uso de un manejo integrado de plagas compuesto de podas fitosanitarias, eliminación de mazorcas y la reducción de humedad relativa (Sánchez, Jaramillo , & Ramírez, Enfermedades del Cacao, 2015).

Figura. 3 Sintomatología de Escoba de bruja



Fuente: (SENASICA, 2016)

2.5.3. Monilia

El origen de la moniliasis se da en América del Sur, siendo Colombia y Ecuador los primeros países en presentar su sintomatología en plantaciones cacaoteras (Sánchez, Jaramillo, & Ramírez, Enfermedades del Cacao, 2015). En la última década, Latinoamérica ha venido decreciendo en su producción, debido al incremento de la enfermedad moniliasis, por su fácil adaptabilidad a las diferentes condiciones ambientales de la zona (Pabón, Herrera, & Sepúlveda, 2016).

El manejo integrado de plagas, es fundamental en el control de moniliasis, se ha visto una reducción de la incidencia de la enfermedad en cultivares de cacao, luego de realizar labores culturales como podas fitosanitarias, recolección de mazorcas y la incorporación de microorganismos para el control de hongos fitopatógenos principalmente *Moniliophthora roreri* (Anzules, Borjas, Alvarado, Castro, & Julca, Control cultural, biológico y químico de *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* spp en *Theobroma cacao* 'CCN-51, 2019).

2.5.3.1. Moniliophthora roreri

Moniliophthora roreri es el agente causal de la enfermedad moniliasis, en América latina es considerada como la más destructiva de todas las enfermedades que afectan al cultivo de cacao, provoca necrosis interna y externa en las mazorcas (Ortíz, Torres, & Hernandez, 2015). Se caracteriza por ser un hongo que tiene dos fases infecciosas: la fase inicial biotrófica se da

comienzo en los tejidos del huésped y la segunda fase saprofítica , degrada el tejido provocando la necrosis en los frutos (Guerrero, Cevallos, Eguez, & Peñaherrera, El potencial del uso de microorganismos endofíticos como agentes de control de enfermedades en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.), 2020). La moniliasis causada por el hongo *Moniliophthora roreri* provocó pérdidas mayor al 30% en la producción, donde se implementó el uso de productos con baja toxicidad y un buen manejo integrado para el control de la diseminación del hongo en las plantaciones de cacao (Huaman & Cabezas, 2019).

2.5.4. 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

2.5.5. Sintomatología

Los síntomas que se presentan generalmente son las coloraciones acuosas, deformación de los tejidos de los frutos (tumefacción), maduración precoz de las mazorcas, la momificación de los frutos y la pudrición de las almendras dentro del fruto todos estos síntomas ocasionan la necrosis total del fruto (Pérez L. , 2018). Las lesiones ocasionadas por el hongo *Moniliophthora roreri*, se caracterizan por la presencia de una masa blanca densa (esporas) sobre las mazorcas,

que cambian gradualmente de color cenizo a marrón conforme va avanzando la enfermedad (Carrera, Herrera, Díaz, & Leiva, 2016).

Figura. 4 Sintomatología de Moniliasis



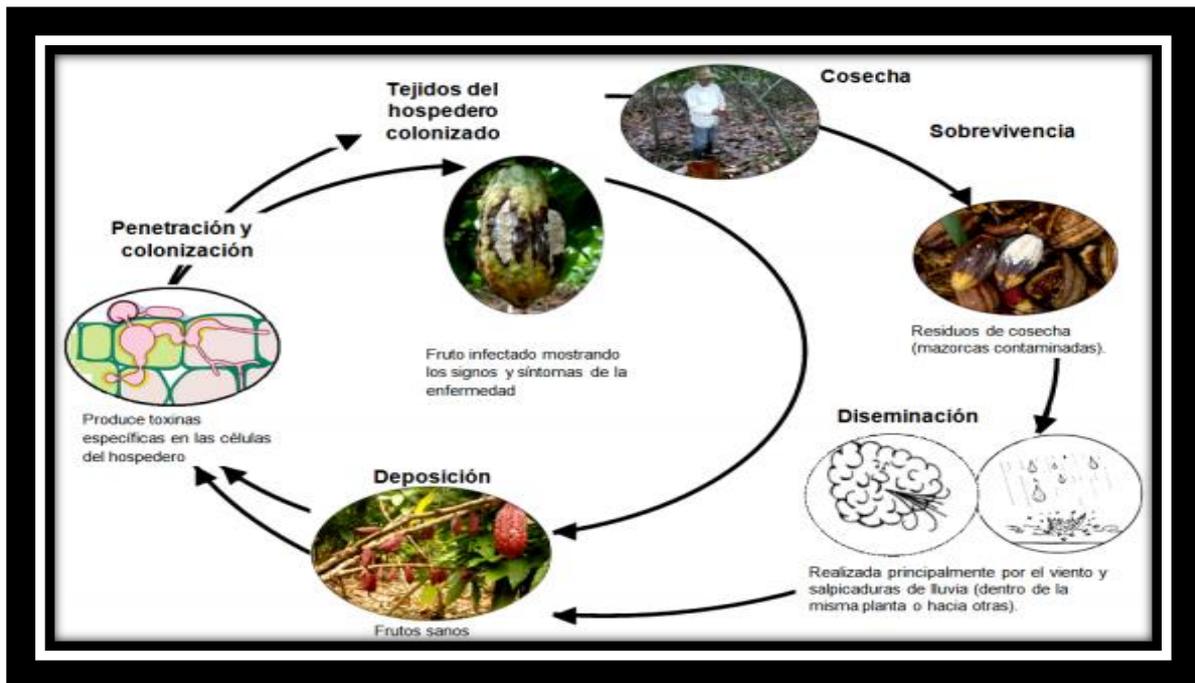
Fuente: (Pérez L. , 2018)

2.5.6. Ciclo de enfermedad

El ciclo de la enfermedad da inicio en la época seca, donde se agrupa la mayor cantidad de esporas, la humedad es el factor ambiental primordial en la proliferación de la infección del hongo, las esporas son diseminadas por lluvia, viento o por las personas, el patógeno infecta las mazorcas de cacao jóvenes causando una hinchazón y maduración prematura (Pérez L. , 2018). El proceso de germinación de las esporas se da a través de la epidermis de la vaina o por los estomas, los tejidos jóvenes son los más susceptibles para el desarrollo de la enfermedad (Bailey & Meinhardt, 2016).

La infección del patógeno, provoca necrosis en los tejidos centrales de la parte interna del fruto, el proceso infeccioso demora de tres a cuatro días en ese lapso de tiempo se provocan lesiones de color blanca en el fruto, el ciclo de vida de *Moniliophthora roreri* dura 60 días en cultivares de cacao susceptibles como el nacional y en cultivares resistentes como CCN-51 demora 73 días (Suárez & Hernández, 2010).

Figura. 5 Ciclo de vida de *Moniliophthora roreri* (Cif y Par)



Fuente (Sánchez & Garcés, 2012).

2.5.7. Tipo de controles

2.5.7.1. Químico

El uso de fungicidas como método de control para moniliasis tiene resultados favorables, pero los altos costos de aplicación obligan a los productores a buscar nuevas alternativas. Los fungicidas a base de cobre son los que tienen un alto porcentaje de inhibición de las esporas de *Moniliophthora roreri*, algunos estudios demostraron que el *Azoxystrobin* inhibe el 100% la germinación de conidios del hongo y un 96% el crecimiento micelial, por lo que se recomienda el uso de un manejo integrado de plagas (MIP) y aplicaciones de fungicidas para el control de la moniliasis (Anzules , Borjas, Alvarado, Castro, & Julca, Control cultural, biológico y químico de *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* spp en *Theobroma cacao* ‘CCN-51, 2019).

2.5.7.2. Biológico

El control biológico es un método que incorpora el uso de microorganismo que tengan control sobre hongos fitopatógenos. El empleo de microorganismo antagonista como *Trichoderma* sp, demostró una eficacia del 95% en condiciones controladas de laboratorio y del

89% con *Bacillus brevis* a nivel in vitro en la inhibición micelial de *Moniliophthora roreri* (Correa , Castro, & Coy, Estado de la moniliasis del cacao causada por *Moniliophthora roreri* en Colombia, 2014).

Según Aragón & Beltrán (2018), obtuvieron resultados favorables empleando *T. stromaticum* en el control del hongo *M. pernicioso* que ocasiona la enfermedad escoba de bruja. El uso de hongos endófitos demostró que el control biológico contiene metabolitos secundarios y genera resistencia al ataque de enfermedades causadas por bacterias, nematodos y fitopatógenos.

2.5.7.3. Cultural

El control cultural es la herramienta principal para combatir enfermedades ocasionadas por hongos fitopatógenos, esta práctica consiste en la realización de labores dentro de la plantación como podas fitosanitarias, remoción de mazorcas enfermas, manejo de sombra y densidad de población, el conjunto de labores puede reducir la incidencia de la enfermedad dentro de las plantaciones cacaoteras en un 50% (Guerrero, Cevallos, Egeuz, & Peñaherrera, El potencial del uso de microorganismos endofíticos como agentes de control de enfermedades en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.), 2020).

2.6. Efecto de extractos vegetales en control fúngico de enfermedades

Para el manejo de enfermedades en cacao no existe un control eficaz, por lo tanto, se han propuesto nuevas alternativas para inhibir la diseminación de hongos fitopatógenos, aplicando medidas que tenga un bajo impacto ambiental como es el uso de extracto botánicos. Los extractos botánicos se caracterizan por las presencia de metabolitos secundarios que se encargan de generar estrategias de defensa en las plantas (Arcos, Martínez, Ortiz, Martínez, & Avendaño, 2019).

Los metabolitos secundarios responden a estímulos en condiciones de estrés biótico y abiótico. Las enzimas de la planta son las encargadas en sintetizar y degradar la pared celular

de los microorganismos, se agrupan en flavonoides, terpenos, alcaloides, lectinas y fenoles (Andrade, y otros, 2017). Se pueden realizar diferentes tipos de extractos etanólico, metanolicos, acuoso y aceites esenciales (Mesa, Marin, Ocampo , Calle, & Monsalve , 2019).

2.6.1. Manzanilla

La manzanilla (*Chamaemelum nobile*) es una planta de la familia Asteraceae, el extracto de manzanilla tiene diferentes usos espasmolíticos, ansiolítico y antibacteriano (Meneses, Soto, Espinosa, & Ramírez, 2008).

La manzanilla posee estrategias químicas de defensa que provocan repelencia o efectos de disuasión. Las fitoalexinas presentes activan las defensas lo cual generan resistencia al ataque de patógenos (Chalacamá , 2016).

2.6.2. Canela

Los aceites 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 inhibitinas 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 hidrolisis enzimática (Armas Caballero, Márquez Villacorta, & Pretell Vásquez, 2011).

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.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de fitopatología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala (UTMACH), ubicada en la Av. Panamericana, 5,5 km via Machala-Pasaje, parroquia el Cambio en el cantón Machala, provincia de El Oro.

3.2. Materiales y equipo

3.2.1. Equipos de laboratorio

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

3.2.2. Materiales de laboratorio

- Probeta
- Vasos de precipitación
- Algodón
- Probeta
- Cajas Petri
- PDA (Papa-Destroza-Agar)
- Cloranfenicol

- Alcohol
- Cinta plástica
- Botellas de vidrio
- Mechero de Alcohol
- Agua destilada
- Pinzas

3.2.3. Material Vegetal

- Manzanilla (*Chamaemelum nobile*)
- Canela (*Cinnamomum verum*)

3.3. Metodología

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

La primera fase del experimento comenzó, con el aislamiento y purificación del hongo en el jardín clonal de la Universidad Técnica de Machala (UTMACH), donde se extrajeron mazorcas de variedad CCN-51, que presenten sintomatología de la enfermedad moniliasis que es ocasionada por el hongo *M. roreri*, se retiraron las mazorcas de el árbol y fueron depositadas en una funda plástica para evitar la esporulación de las mazorcas enfermas dentro de la plantación y se procedió a llevarlas al laboratorio para la extracción de las respectivas muestras.

La extracción de los micelios del hongo en las mazorcas enfermas, fueron colocados en cajas Petri con PDA (papa-destroza-agar), donde fueron aislados durante 14 días a una temperatura de (25°C) favorable para el crecimiento micelial del hongo, luego de evaluar las muestras que tuvieron el mejor desarrollo de *M. roreri*, se procedió a la purificación del hongo el mismo tiempo, finalmente se escogieron las muestras más puras para el experimento.

3.3.2. Preparación de medio de cultivo PDA

Se realizaron 1500 ml de PDA (papa- destroza- agar), del cual solo utilizaremos 820 ml para nuestro experimento y el sobrante será almacenado en botellas de vidrio, con tapa de

aluminio y cinta en la nevera, para elaborar el medio de cultivo pesamos 20 gr de PDA por cada 500 ml de agua de agua purificada , lo colocamos durante 3 minutos en el microondas hasta obtener una pequeña ebullición y una apariencia traslucida, se coloca 60 mg de cloranfenicol y se afora con agua caliente a 500 ml en un vaso de precipitación, finalmente con una probeta se coloca en botellas de vidrio PDA con 70- 80- 90 ml de medio de cultivo las sellamos con cinta y las colocamos en fundas de polifan para llevarlas al esterilizador (autoclave) durante 20 min y estará listo para realizar la inoculación del hongo y la aplicación de los extractos.

3.3.3. Preparación de extractos acuosos

Para realizar la preparación de los extractos acuosos, se hizo un análisis de artículos científicos, donde utilizaban extractos botánicos de origen vegetal con resultados favorables en la inhibición de hongos fitopatógenos y su crecimiento micelial a nivel in vitro, las plantas que seleccionamos para la investigación fueron:

- **Manzanilla** (*Chamaemelum nobile*)
- **Canela** (*Cinnamomum verum*)

La metodología que usamos para la extracción de los extractos acuosos fue basada en la investigación de Boiteux, Vanda, Fernández, Lucero , & Pizzuolo, (2015), donde se modificó el procedimiento en función de los tratamientos y la combinación de extractos.

3.3.3.1. Esterilización de extractos

Para la esterilización usamos tres matraces de Erlenmeyer donde colocamos todo el material fresco de las diferentes plantas, se depositó en cada recipiente 60gr de manzanilla/300ml de agua destilada, 60gr de canela/300ml de agua destilada y una combinación de 30gr de canela - 30gr de manzanilla /300ml de agua destilada, la relación final peso/volumen fue de 1:5. Una vez preparado los tratamientos se los esteriliza durante 45 min y se observa la cantidad de extracto puro obtenido.

3.3.3.2. Reducción

Esta práctica la realizamos para reducir el excedente del extracto y tener una mayor concentración pura, para la cual utilizamos el mechero de bunsen donde lo colocamos al recipiente sobre el Erlenmeyer luego de haberlo esterilizado se lo deja reposar durante 3 a 5 min a fuego lento, y por ultimo lo llevamos a la cámara de flujo donde se procederá a la dosificación y plaqueo de cajas Petri.

3.3.3.3. Dosificación

La dosificación de los tratamientos se realizó, en 10 botellas de vidrio con medidas establecidas de 70- 80- 90- ml de pda, se colocó 10-20-30 ml de extracto de manzanilla, canela y combinado (canela/manzanilla), y el testigo una botella con 100 ml de PDA para evidenciar la diferencia significativa de los tratamientos en relación al testigo, finalmente se plaquea y se siembra el micelio del hongo.

3.3.4. Siembra del hongo

Para etapa final de la siembra utilizamos, el hongo aislado y purificado de *M. royeri* previamente y las botellas con extractos, se procede a realizar el plaqueo de las cajas Petri con las diferentes dosis de extractos (canela, manzanilla y canela-manzanilla) con las medidas establecidas, una vez terminado de plaquear todos los tratamientos esperamos que el PDA se solidifique y se procede a la siembra del hongo con la ayuda de un saca bocado extraemos un micelio del hongo y lo colocamos en la Petri con el extracto lo tapamos , sellamos y se marcamos con la nomenclatura que identifique el tratamiento , los datos se toman 2 veces por semana durante 21 días , para medir el crecimiento micelial del hongo se divide la caja Petri en cuatro cuadrantes A-B-C-D y se va obteniendo los datos de forma radial.

3.4. Tratamientos de extractos

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

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+manzanilla	90 + 10
T5	20	Pda+manzanilla	80 + 20
T6	30	Pda+manzanilla	70 + 30
T7	10	Pda+manzanilla/canela	90 + 10
T8	20	Pda+manzanilla/canela	80 + 20
T9	30	Pda+manzanilla/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. roreri* a nivel in vitro, en base a la aplicación y combinación de diferentes extractos acuosos en diferentes dosis.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con los datos recopilados en el ensayo experimental se realizaron las pruebas de normalidad (Shapiro-Wilks) y homocedasticidad (Levene), para ver si se cumple con dichos supuestos planteados. Donde se evidencio que los datos obtenidos no tienen una varianza homogénea, ni distribución normal, por lo tanto se procedió a realizar un análisis no paramétrico mediante la prueba Kruskal-Wallis.

Cuadro 3. Prueba de Kruskal Wallis

Prueba de Kruskal Wallis								
Variable	TRATAMIENTOS	Trat.	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
AUDPC	T1	1	4	36,78	0,35	36,83	36,11	<0,0001
AUDPC	T10	2	4	41,76	2,26	41,83		
AUDPC	T2	3	4	0,00	0,00	0,00		
AUDPC	T3	4	4	0,00	0,00	0,00		
AUDPC	T4	5	4	29,33	0,94	29,40		
AUDPC	T5	6	4	29,52	0,86	29,51		
AUDPC	T6	7	4	28,23	1,20	28,08		
AUDPC	T7	8	4	33,28	1,76	33,06		
AUDPC	T8	9	4	27,47	2,23	26,54		
AUDPC	T9	10	4	1,49	2,98	0,00		

Cuadro 4. Comparación de rangos medianas

Letras distintas indican diferencias significativas (p<=0,05)	
Trat.	Ranks
T3	6,00 A
T2	6,00 A B
T9	7,50 A B C
T8	17,50 A B C D
T6	18,75 A B C D E
T4	22,25 C D E F
T5	23,50 C D E F G
T7	30,50 D E F G
T1	34,50 E F G
T10	38,50 G

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 indica diferentes niveles y agrupaciones, por lo tanto, letras iguales entre tratamientos no son significativamente diferentes.

En el cuadro 4, en la prueba de comparación de medianas, en los promedios del crecimiento micelial (mm) se observan 9 niveles de agrupamientos entre los tratamientos estudiados, esta prueba nos indica que los tratamientos T3 (extracto acuoso de canela al 30%), T2(extracto acuoso de canela al 20%) y el T9 (extracto acuoso de manzanilla-canela al 30%) son estadísticamente superior al resto de los tratamientos. Estos datos obtenidos son similares a los obtenidos de Pazmiño (2016) los cuales indican que el extracto de canela en una dosis de 15ml/l tiene incidencia en el crecimiento de hongo fitopatógenos como *Botrytis cinérea* en el cultivo de fresa.

Le siguen en orden de eficacia los tratamientos T8 (extracto acuoso de Manzanilla-canela al 20%), T6 (extracto acuoso de manzanilla al 30%), T4(extracto acuoso de Manzanilla al 10%) y por último el tratamiento T5(extracto acuoso de Manzanilla al 20%) son estadísticamente diferentes al testigo. Según Farías (2021) demuestra que el aceite esencial de canela a partir de la concentración de 500 ppm inhibe el crecimiento total para todas las cepas de *M.roreri* , alcanzo el maximo porcentaje de inhibicion a nivel in vitro.

Por último, los tratamientos T7(extracto acuoso de manzanilla-canela al 10%) y el tratamiento T1(extracto acuoso de canela al 10%) presentaron un efecto menor antifúngico como se observa en el cuadro comparación de medianas, son diferentes al T10(testigo absoluto), es decir si tuvieron un efecto inhibitorio mínimo sobre el crecimiento micelial del hongo *Moniliophthora roreri* a nivel in vitro.

5. CONCLUSIONES

- En condiciones controladas de laboratorio, los tratamientos que presentaron mayor efecto inhibitorio T3 (extracto acuoso de canela al 30%), T2(extracto acuoso de canela al 20%) y el T9 (extracto acuoso de manzanilla-canela al 30%), son estadísticamente iguales y diferentes al resto de los tratamientos.
- Le siguen en orden de eficacia los tratamientos que son a base de canela y combinados T8 (extracto acuoso de Manzanilla-canela al 20%), T6 (extracto acuoso de manzanilla al 30%), T4(extracto acuoso de Manzanilla al 10%) y por último el tratamiento T5(extracto acuoso de Manzanilla al 20%), son estadísticamente diferentes al testigo.
- Se observa que la combinación de extractos acuosos de manzanilla y canela, tiene un efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial del hongo *Moniliophthora roreri* en concentraciones altas de extractos botánicos.

6. RECOMENDACIONES

- Dado los resultados bastante satisfactorios del extracto acuoso de manzanilla y canela, se recomienda probar en futuras investigaciones diferentes tipos de concentraciones.
- Se recomienda realizar aplicaciones en campo, donde se evalué la inhibición del hongo *Moniliophthora roreri* dentro de los cultivares de cacao.
- Realizar estudios enfocados en el uso de extractos botánicos con potencial antifúngico, como una alternativa de control en el manejo de enfermedades ocasionadas por hongos fitopatógenos, en base a una agricultura orgánica que sea amigable con el medio ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

- 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*, vol. 49, núm. 1, 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 ácaros: Agentes de control biológico* (págs. 854-877). Colombia: AGROSAVIA.
- 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.). *Rev. Agricultura Tropical Vol. 5 N*, 19-24.
- 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.
- 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.
- 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*, 2-12.
- Moreno, C., Molina, I., Miranda, Z., Moreno, R., & Moreno, P. (2020). LA CADENA DE VALOR DE CACAO EN ECUADOR: UNA PROPUESTA DE ESTRATEGIAS PARA COADYUVAR A LA SOSTENIBILIDAD. *BIOAGRO*, 205-214.
- 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 no.4*, 511-520.
- Arvelo, M., González, D., Maroto, S., Delgado, T., & Montoya, P. (2017). *Manual Técnico del Cultivo de Cacao Prácticas Latinoamericanas*. San Jose, Costa Rica: IICA.
- Bailey, B., & Meinhardt, L. (2016). *Cacao diseases: a history of old enemies and new encounters*. Springer.

- 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, No.16*, 273-282.
- 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 vol.43 no.1*, 48-54.
- Celis, A., Mendoza, C., & Pachón, M. (2009). USO DE EXTRACTOS VEGETALES EN EL MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS, ENFERMEDADES Y ARVENSES. *Temas Agrarios*, 5-16.
- Chalacamá, J. (2016). Efecto del hidrolato de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) en el manejo de *Phytophthora infestans* en el cultivo de papa variedad Superchola Centro Experimental San Francisco” Huaca-Carchi. *Trabajo de titulación previo la obtención del título de Ingeniero en Desarrollo Integral Agropecuario*. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI, TULCÁN - ECUADOR.
- Chávez, G., Olaya, R., & Maza, J. (2018). Costo de producción de cacao clonal ccn-51 en la Parroquia Bellamaria, Ecuador. *Universidad y Sociedad vol.10 no.4*, 179-185.
- 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.
- Farías, V. (2021). FORMULACIÓN DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS PARA EL CONTROL DE MONILIOPHTHORA RORERI EN EL CULTIVO DE CACAO (*Theobroma cacao* L.). *Tesis de grado(Ingeniería Agronomica*. UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL, Guayaquil.
- Florflores. (2019). FLORES. Obtenido de FLORES: <http://www.florflores.com/el-cacao/>
- Gamboa, J., Rodríguez, J., Gamboa, A., Durán, E., & Rojas, S. (2021). Evaluación agronómica de genotipos de *Theobroma cacao* L. en la Amazonia colombiana. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial Vol. 19 No 1*, 244-255.
- González, M., Paredes, V., Erazo, F., & Sánchez, T. (2019). Evaluación “in vitro” de la Actividad Antifúngica 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.
- Huaman, C., & Cabezas, O. (2019). Aceite de matico (*Piper aduncum*) en el control de *Moniliophthora roreri* agente causal de la moniliasis en cacao. *Peruvian Agricultural Research, 1(2)*., 53-57.
- Juárez, K., Díaz, E., Méndez, M., Pina, M., Pérez, A., & Sánchez, M. (2019). EFECTO DE EXTRACTOS CRUDOS DE AJO (*Allium sativum*) SOBRE EL DESARROLLO in vitro DE *Aspergillus parasiticus* Y *Aspergillus niger*. *Polibotanica*, 99- 111.

- Lanaud, C., Loor, R., Zarrillo, S., & Valdez, F. (2012). Origen de la domesticación del cacao y su uso temprano en Ecuador. *Nuestro Patrimonio* , 12-14.
- León, F., Calderón, J., & Mayorga, E. (2016). Estrategias para el cultivo, comercialización y exportación del cacao fino de aroma en Ecuador. *Revista Ciencia UNEMI*, 45-55.
- Manejo de las enfermedades del cacao (Theobroma cacao L.) en Colombia, con énfasis en monilia (Moniliophthora roreri)*. (2010). COLOMBIA: CORPOICA.
- 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.
- Meneses, J., Soto, R., Espinosa, T., & Ramírez, M. (2008). OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE FLAVONOIDES DE FLOR DE MANZANILLA (*Matricaria recutita* L.). *AGROCIENCIA*, 425-433.
- Mesa, A., Marin, P., Ocampo, O., Calle, J., & Monsalve, Z. (2019). Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos. *RIA*, 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., & Hernandez, S. (2015). Comparación de dos sistemas de manejo del cultivo del cacao, en presencia de *Moniliophthora roreri*, en México. *Revista fitotecnia mexicana vol.38*, 191-196.
- Pabón, M., Herrera, L., & Sepúlveda, W. (2016). CARACTERIZACION SOCIO-ECONÓMICA Y PRODUCTIVA DEL CULTIVO DE CACAO EN EL DEPARTAMENTO DE SANTANDER (COLOMBIA). *REVISTA MEXICANA DE AGRONEGOCIOS*, 283-294.
- Pazmiño, N. (2016). EL USO DE EXTRACTO NATURAL DE CANELA (*Cinnamomum zeylanicum*) Y COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense* L.) PARA EL CONTROL DE *Botrytis cinerea* EN EL CULTIVO DE FRESA (*Fragaria ananassa*). *Trabajo de investigación, MAESTRÍA EN AGROECOLOGÍA Y AMBIENTE*. UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO, Ambato. Ecuador.
- Perez, 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*, 146-165.
- Pérez, E., Guzmán, R., Álvarez, C., Lares, M., Martínez, K., Suniaga, G., & Pavani, A. (2021). Cacao, cultura y patrimonio: un hábitat de aroma fino en Venezuela. *RIVAR (Santiago) vol.8 no.22*, 146-162.
- Pérez, L. (2018). *Moniliophthora roreri* H.C. Evans et al. y *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime: impacto, síntomas, diagnóstico, epidemiología y manejo. *Rev. Protección Veg. vol.33 no.1*, 1-13.

- 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 , F., & Garcés, F. (2012). *Moniliophthora roreri* (Cif y Par) Evans et al. en el cultivo de cacao. *Scientia Agropecuaria*, 249 - 258.
- Sanchez , F., Medina, M., Díaz, G., Ramos, R., Vera, J., Vásquez, V., . . . Nodari, R. (2015). POTENCIAL SANITARIO Y PRODUCTIVO DE 12 CLONES DE CACAO EN ECUADOR. *Revista fitotecnica mexicana*, 38, 265-274.
- Sánchez, M., Jaramillo , E., & Ramírez, I. (2015). *Enfermedades del Cacao*. Machala: UTMACH.
- SENASICA. (2016). Escoba de bruja del cacao (*Moniliophthora perniciosa*). *Dirección General de Sanidad Vegetal Programa de Vigilancia Epidemiológica*, 4-21.
- 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.
- Vicepresidencia, S. T. (2015). *Diagnóstico de la Cadena Productiva del Cacao en el Ecuador*.
- Víctor, S., Zambrano, H., & Iglesias, C. (2019). *La cadena de valor del cacao en América Latina y el Caribe*. Quito, Estación Experimental Santa Catalina : INIAP.

ANEXOS

Anexo 1. Preparación de medio de cultivo (PDA)



Anexo 2. Aislamiento y purificación del hongo



Anexo 3. Elaboración de extractos

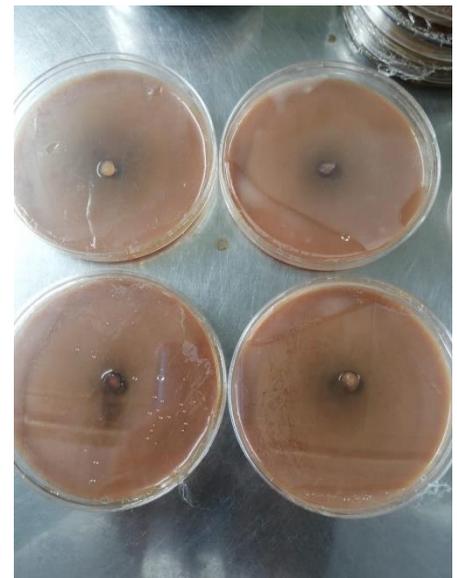
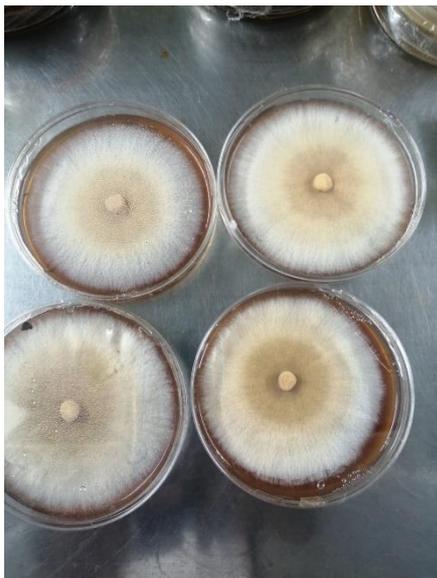


Anexo 4. Crecimiento micelial de los tratamientos

MANZANILLA 10-20-30 %



CANELA 10-20-30 %



Manzanilla/Canela 10-20-30 %

