



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

EVALUACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSOS DE HIERBA LUISA Y  
OREGANO SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL MONILIOPTHORA  
RORERI A NIVEL IN VITRO

PIZARRO MARTINEZ GENESIS YULIANA  
INGENIERA AGRÓNOMA

MACHALA  
2022



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA AGRÓNOMICA

EVALUACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSOS DE HIERBA LUISA Y  
OREGANO SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL  
MONILIOPTHORA RORERI A NIVEL IN VITRO

PIZARRO MARTINEZ GENESIS YULIANA  
INGENIERA AGRÓNOMA

MACHALA  
2022



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA AGRÓNOMICA

TRABAJO TITULACIÓN  
TRABAJO EXPERIMENTAL

EVALUACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSOS DE HIERBA LUISA Y OREGANO  
SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL MONILIOPTHORA RORERI A NIVEL IN  
VITRO

PIZARRO MARTINEZ GENESIS YULIANA  
INGENIERA AGRÓNOMA

JARAMILLO AGUILAR EDWIN EDISON

MACHALA, 23 DE SEPTIEMBRE DE 2022

MACHALA  
2022

# EVALUACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSOS DE HIREBALUISA Y OREGANO

---

## INFORME DE ORIGINALIDAD

---

0%

INDICE DE SIMILITUD

%

FUENTES DE INTERNET

0%

PUBLICACIONES

%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

---

## FUENTES PRIMARIAS

---

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 100 words

Excluir bibliografía

Activo

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

La que suscribe, PIZARRO MARTINEZ GENESIS YULIANA, en calidad de autora del siguiente trabajo escrito titulado EVALUACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSOS DE HIERBA LUISA Y OREGANO SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL MONILIOPHTHORA 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.

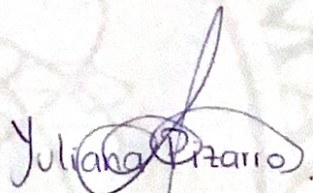
La autora declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

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.

La autora 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 septiembre de 2022



PIZARRO MARTINEZ GENESIS YULIANA  
0707020962

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo va dedicado a Dios por haberme dado la fortaleza para continuar y terminar mis estudios.

A mis padres Darwin Pizarro y Johanna Martínez, por siempre darme su apoyo en la vida estudiantil y en la vida diaria, por impulsarme a ser mejor persona cada día para llegar a ser una gran profesional.

A mi hermana Geanella Pizarro por ayudarme y estar en todos los momentos de mi vida.

A mi abuelita Lolita Valarezo, que es como mi segunda mamá y ha estado en todas las etapas de mi vida, criándome y enseñándome muchas cosas, a mi abuelito Jacinto Pizarro (+) a quien siempre tengo presente y lo recuerdo con mucho cariño, por haber sido un gran apoyo desde que era pequeña.

A mis tíos Nelly Pizarro, Jacqueline Pizarro y Vicente Pizarro por haberme brindado sus conocimientos y siempre estar dispuestos a ofrecerme su ayuda cuando lo he necesitado.

***Génesis Yuliana Pizarro Martínez***

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por permitirme lograr una de mis metas y darme salud para seguir cumpliendo mis sueños y celebrándolos junto a mis seres queridos.

A mis padres Darwin Pizarro y Johanna Martínez por educarme con principios y valores y hacer de mí una persona responsable y honesta, por brindarme su apoyo incondicional y confianza en cada momento de mi vida.

A mi abuelita Lolita Valarezo, a mis tíos Nelly, Jacqueline y Vicente Pizarro Valarezo por su ayuda y apoyo durante toda mi vida estudiantil.

A mi abuelita Olga Castillo y tía Cristina Villalta que, aunque estén lejos, están pendientes de todos mis logros.

Al Ing. Agr. Edwin Edison Jaramillo Aguilar por ser mi tutor de tesis, brindarme todos sus conocimientos dentro de las aulas y en el proceso de realización del presente trabajo.

Finalmente agradezco a la Facultad de Ciencias Agropecuarias por abrirme sus puertas y a todos los docentes por ser una fuente de conocimientos, ofrecerme todos sus consejos y por haber contribuido en mi formación para salir a la vida laboral.

***Génesis Yuliana Pizarro Martínez***

# **EVALUACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSOS DE HIERBA LUISA Y ORÉGANO SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL DE MONILIOPHTHORA RORERI A NIVEL IN VITRO**

**Autor**

Génesis Yuliana Pizarro Martínez

**Tutor**

Ing. Edison Jaramillo

## **RESUMEN**

En Ecuador el cacao (*Theobroma cacao*) es uno de los productos principales en la exportación tradicional ecuatoriana. Según el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC), el sector cacaotero aporta a la población económicamente activa nacional con el 5% (PEA) y el 15% de la PEA rural, el sector cacaotero contribuye con el 5% de la población económicamente activa. A nivel mundial se exportan alrededor de 3,3 millones de toneladas de cacao en grano, el cual representa el 15 % en América Latina y el Caribe. En Ecuador los pequeños productores lideran la producción en un 95%, siendo Los Ríos, Guayas, Manabí, Esmeraldas y El Oro las provincias con mayor producción de cacao en el país, con una superficie de 500 mil hectáreas. La principal enfermedad limitante en el cacao es la Moniliasis ocasionada por el hongo *Moniliophthora roreri*, su sintomatología comienza con manchas aceitosas de forma circular de color amarillo y marrón, las cuales pueden expandirse hasta cubrir todo el fruto para luego irse propagando a todas las mazorcas de la plantación. Para el control de Moniliasis se aplican diferentes alternativas, compuesta por el control químico, biológico y cultural. Los extractos botánicos tienen la particularidad de poseer metabolitos secundarios, los cuales son compuestos químicos formados por las mismas plantas que actúan como mecanismo de defensa contra depredadores y fitopatógenos, por lo tanto, se pueden caracterizar por inhibir el



crecimiento de hongos Fitopatógenos. En base a la problemática de no tener un manejo adecuado de enfermedades, se plantea el uso de extractos botánicos como alternativa en el control de Moniliasis, utilizando plantas que posean características anti fúngicas como Orégano (*Origanum vulgare* L.) y Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*). Los tratamientos empleados en la investigación se detallan a continuación: T1 (extracto acuoso de Orégano al 10%); T2 (extracto acuoso de Orégano al 20%); T3 (extracto acuoso de Orégano al 30%); T4 (extracto acuoso de Hierba Luisa al 10%); T5 (extracto acuoso de Hierba Luisa al 20%); T6 (extracto acuoso de Hierba Luisa al 30%); T7 (extracto acuoso de Orégano + Hierba Luisa al 10%); T8 (extracto acuoso de Orégano + Hierba Luisa al 20%); T9 (extracto acuoso de Orégano + Hierba Luisa al 30%); T10 (Testigo absoluto), estos tratamientos fueron aplicados de acuerdo a sus dosis correspondiente. Para la elaboración de los tratamientos utilizamos tres matraces Erlenmeyer donde colocamos el material fresco de las diferentes plantas, la dosificación que se usó en cada Erlenmeyer fue: 60gr de Orégano/180ml de agua destilada; 60gr de Hierba Luisa/180ml de agua destilada y una combinación de 30gr de Orégano – 30 gr de Hierba Luisa/180ml de agua destilada, la relación final peso/volumen fue 1:3. En condiciones controladas de laboratorio los tratamientos que presentaron mayor efecto inhibitorio son T1 extracto acuoso de Orégano al 10%; T2 extracto acuoso de Orégano al 20%; T3 extracto acuoso de Orégano al 30%, ambos son estadísticamente iguales y diferente al resto de los tratamientos, que no presentaron ningún efecto inhibitorio en relación al testigo, finalmente se recomienda el uso de extractos botánicos como alternativa de control en el manejo de enfermedades fúngicas.

**Palabras clave:** Moniliophthora roreri, Extracto botánico, Hongos, Metabolitos secundarios

# EVALUATION OF AQUEOUS EXTRACTS OF LEMON GRASS AND OREGANO THE MYCELIAL GROWTH OF MONILIOPHTHORA RORERI AT IN VITRO LEVEL

**Author**

Genesis Yuliana Pizarro Martínez

**Tutor**

Ing. Edison Jaramillo

## ABSTRACT

In Ecuador cocoa (*Theobroma cacao*) is one of the main products in the traditional Ecuadorian export. According to the National Institute of Statistics and Censuses (INEC), the cocoa sector contributes to the national economically active population with 5% (PEA) and 15% of the rural PEA, the cocoa sector contributes 5% of the economically active population. Around 3.3 million tons of cocoa beans are exported worldwide, which represents 15% in Latin America and the Caribbean. In Ecuador, small producers lead production by 95%, with Los Ríos, Guayas, Manabí, Esmeraldas and El Oro being the provinces with the highest cocoa production in the country, with an area of 500 thousand hectares. The main limiting disease in cocoa is Moniliasis caused by the fungus *Moniliophthora roreri*, its symptoms begin with circular yellow and brown oily spots, which can expand to cover the entire fruit and then spread to all the pods of the plantation. For the control of Moniliasis, different alternatives are applied, composed of chemical, biological and cultural control. Botanical extracts have the particularity of having secondary metabolites, which are chemical compounds formed by the plants themselves that act as a defense mechanism against predators and phytopathogens, therefore, they can be characterized by inhibiting the growth of phytopathogenic fungi. Based on the problem of not having an adequate management of diseases, the use of botanical extracts

is proposed as an alternative in the control of Moniliasis, using plants that have anti-fungal characteristics such as Oregano (*Origanum vulgare* L.) and Lemongrass (*Cymbopogon citratus*). The treatments used in the research are detailed below: T1 (aqueous extract of Oregano at 10%); T2 (aqueous extract of Oregano at 20%); T3 (aqueous extract of Oregano at 30%); T4 (aqueous extract of Lemongrass at 10%); T5 (aqueous extract of Lemongrass at 20% ); T6 (aqueous extract of Lemongrass at 30%); T7 (aqueous extract of Oregano + Lemongrass at 10%); T8 (aqueous extract of Oregano + Lemongrass at 20%); T9 (aqueous extract of Oregano + Lemongrass at 30%); T10 (Absolute control), these treatments were applied according to their corresponding doses. For the elaboration of the treatments we use three Erlenmeyer flasks where we place the fresh material of the different plants, the dosage that was used in each Erlenmeyer flask was: 60gr of Oregano/180ml of distilled water; 60gr of Lemongrass/180ml of distilled water and a combination of 30gr of Oregano – 30gr of Lemongrass/180ml of distilled water, the final weight/volume ratio was 1:3. Under controlled laboratory conditions, the treatments that presented the greatest inhibitory effect are T1 aqueous extract of Oregano at 10%; T2 aqueous extract of Oregano at 20%; T3 aqueous extract of Oregano at 30%, both are statistically equal and different from the rest of the treatments, which did not present any inhibitory effect in relation to the control, finally the use of botanical extracts is recommended as an alternative control in the management of fungal diseases.

**Keywords:** Moniliophthora roreri, Botanical extract, Mushrooms, Secondary metabolites.

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>10</b>
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>13</b>
Origen del Cacao .....	13
Taxonomía del Cacao .....	13
Importancia del Cacao en Ecuador .....	14
Producción .....	14
Producción a Nivel Mundial .....	14
Producción a Nivel Nacional.....	15
Requerimientos Edafoclimáticos .....	16
Principales Plagas y Enfermedades en El Cacao .....	16
Insectos Plagas .....	16
Enfermedades .....	17
Sintomatología .....	18
Agente Causal .....	19
Tipos de Control.....	19
Efectos de Extractos Vegetales en el Control de Fungicidas.....	20
Metabolitos secundarios .....	20
Tipos de Extractos Vegetales .....	20
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>22</b>
Ubicación .....	22
Materiales y equipos .....	22
Equipos de laboratorio .....	22
Materiales de laboratorio.....	22
Material Vegetal.....	23
Metodología .....	23
Aislamiento y purificación del hongo <i>M. royeri</i> .....	23
Preparación de medio de cultivo PDA .....	23

Preparación de extractos acuosos .....	24
Elaboración de los tratamientos .....	24
Dosificación .....	24
Siembra del hongo.....	25
Tratamientos con Extractos .....	25
Variable de estudio .....	26
Procedimiento estadístico .....	26
Diseño completamente al azar (DCA) .....	26
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>27</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>32</b>
<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>33</b>
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>34</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>39</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Taxonomía del cacao .....	13
--	----

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Dosificación de los tratamientos aplicados en el control del hongo <i>M. royeri</i> a nivel in vitro. ....	25
--	----

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b> Proporción de producción de cacao en grano seco por región (2019-2020). 15	
<b>Gráfico 2.</b> Colonia de Pulgones en hoja de cacao .....	16
<b>Gráfico 3.</b> Primera Evaluación .....	27
<b>Gráfico 4.</b> Segunda Evaluación .....	27
<b>Gráfico 5.</b> Tercera Evaluación.....	28
<b>Gráfico 6.</b> Cuarta Evaluación .....	28
<b>Gráfico 7.</b> Quinta Evaluación .....	29
<b>Gráfico 8.</b> Prueba de Kruskal Wallis .....	30
<b>Gráfico 9.</b> Prueba de Comparación de medianas.....	30

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Preparación de medio de cultivo (PDA).....	39
<b>Anexo 2.</b> Aislamiento y purificación del hongo.....	40
<b>Anexo 3.</b> Elaboración de extractos acuosos .....	40
<b>Anexo 4.</b> Plaqueo y siembra de tratamientos .....	41
<b>Anexo 5.</b> Crecimiento micelial de los tratamientos .....	42

## INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao L.*), es una planta que pertenece al género *Theobroma*. Según su historia dice que los mayas cultivaban cacao y la pepa era utilizada como moneda de intercambio, el consumo era reservado para los considerados de la alta sociedad en su civilización, donde preparaban una bebida procedente de los granos de cacao, llamada “xocoatl” de donde se presume que tomo el nombre de chocolate (León, Calderón, & Mayorga, Junio 2016).

A nivel mundial el continente africano representa el 74.9% de la producción de grano de cacao, siendo Costa de Marfil su principal productor abasteciendo con el 35% de la 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 granos de cacao en todas las regiones del mundo (Bonilla, Zamarripa Colmenero, Pecina , Garrido , & Hernández, 2015). En las últimas décadas América Latina y el Caribe, están distribuidas a nivel comercial en 23 países, representando una producción de 675000 TM, siendo Brasil, Ecuador, República Dominicana, Perú, Colombia y México los principales productores con 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, su producción de cacao se encuentra distribuida en 23 provincias, Esmeraldas, Manabí, Pichincha y Cotopaxi ocupan 80.000 ha sembradas que comprende a la zona norte, en la zona central comprende la cuenca del Río Guayas y la provincia de Los Ríos, 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 , distribuidas en todas las regiones del país (Sánchez , Jaramillo , & Ramírez , 2015).

Las principales enfermedades de cacao que afectan a todas las regiones cacaoteras a nivel mundial son la escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*), que afecta el rendimiento de las plantaciones en un 60 a 70 % de la producción y la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) que ocasiona pérdidas de hasta un 80% de las plantaciones de cacao, siendo el problema principal de 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, su sintomatología comienza con machas café sobre las mazorcas jóvenes, continuando con la formación de esporas que ocasionan protuberancias en el fruto e internamente malformaciones en las almendras de cacao (Guerrero, Cevallos, Eguez, & Peñaherrera, 2020).

Las estrategias fitosanitarias que se utilizan para el manejo de la enfermedad moniliasis, son los controles químico, cultural y biológico, estas herramientas de control asociadas a los factores climáticos han demostrado una reducción de la enfermedad en una 40%, otra alternativa con menor impacto ambiental es el uso de hongos antagonistas como *Bacillus subtilis*, para el hongos fitopatógenos, como método químico se emplea fungicidas a base de cobre o fungicidas no sistémicos y como control cultural se realiza podas fitosanitarias y la remoción de mazorcas enfermas dentro de la plantaciones de cacao (Anzules , Borjas, Alvarado, Castro, & Julca, 2019).

Los extractos vegetales son una alternativa poco convencional que no se emplea comúnmente para el control de enfermedades causadas por hongos fitopatógenos, pero debido al bajo impacto ambiental y a su efectividad en el control de plagas, se está



empleando, por la presencia de los metabolitos secundarios presentes, los cuales forman estrategias defensivas de las plantas agrupados en compuestos nitrogenados, fenólicos y terpenos. El uso de extractos botánicos tiene un bajo costo y está considerado que existe alrededor de 3000 compuestos naturales de origen vegetal que ha demostrado actividad bactericida, fungicida, insecticida y nematocida (Celis, Mendoza, & Pachón, 2009).

Dada la problemática que viven los pequeños y grandes productores de cacao al no tener un manejo eficiente para moniliasis, se plantea el uso de extractos vegetales como alternativa de control cultural en hongos fitopatógenos, por lo que se empleará en la siguiente investigación extractos acuosos botánicos que inhiban el crecimiento micelial del hongo (*Moniliophthora roreri*), a nivel in vitro.

#### **Objetivo General**

- Determinar el mejor extracto acuoso en diferentes tratamientos y concentraciones que inhiba el crecimiento micelial del *Moniliophthora roreri* a nivel in vitro.

#### **Objetivo Específico**

- Evaluar el crecimiento radial de *Moniliophthora roreri* a nivel in vitro, en los diferentes tratamientos a través del tiempo.

## MARCO TEÓRICO

### Origen del Cacao

La palabra cacao proviene del maya “Kaj” que quiere decir amargo y “Kab” que significa jugo. Estas palabras al pasar fonéticamente al español, tuvieron una serie de transformaciones que dieron la palabra “cacaotal” que luego dieron paso a la palabra “cacao” (Enríquez Calderón & Paredes Pérez, 1919).

Existe una teoría que sostiene que el origen del cacao en su domesticación se situaba en Mesoamérica, donde encontraron vestigios de cacao aproximadamente 2000 años antes de cristo en los países de Guatemala, Honduras y México. En la actualidad distintas investigaciones mostraron resultados que en la parte de la Amazonia coexisten diversas variedades de *Theobroma cacao* que en los últimos 5,000 años han sido utilizadas en la región (Lanaud et al., 2012).

En Ecuador la cultura del cacao es antigua, donde se tiene conocimiento de que antes de la llegada de los españoles a la costa del pacifico ya demostraban conocimiento y utilización sobre el cacao (Palate Mazo, 2019).

### Taxonomía del Cacao

La taxonomía del cacao se clasifica según (Arvelo et al., 2017).

#### Cuadro 1. Taxonomía del cacao

Reino	Vegetal
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliosida
Subclase	Dilleniidae
Orden	Malvales
Familia	Esterculiceae
Subfamilia	Byttnerioideae

Tribu	Theobromeae
Genero	Theobroma
Especie	Theobroma cacao L.

### **Importancia del Cacao en Ecuador**

En Ecuador el cacao es uno de los productos principales en la exportación tradicional ecuatoriana. El Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC), el sector cacaotero aporta a la población económicamente activa nacional con el 5% (PEA) y el 15% de la PEA rural, el sector cacaotero contribuye con el 5% de la población económicamente activa nacional (PEA) y el 15% de la PEA rural, siendo una parte muy fundamental en la economía familiar costera, Andina y Amazónica Ecuatoriana (Anecacao, 2019).

En Ecuador el cacao representa un rubro muy importante, el cual representa un capital social en la mayoría de parcelas agrícolas por su notable calidad, generando una fuente muy favorable de ingresos. Internamente en Ecuador le han dado muy poco reconocimiento como el rubro que representa la economía ecuatoriana, por la influencia de vida que tiene los pequeños productores. Además, proporciona ayuda a sistemas agroproductivos y a la biodiversidad (Mendoza Vargas et al., 2021).

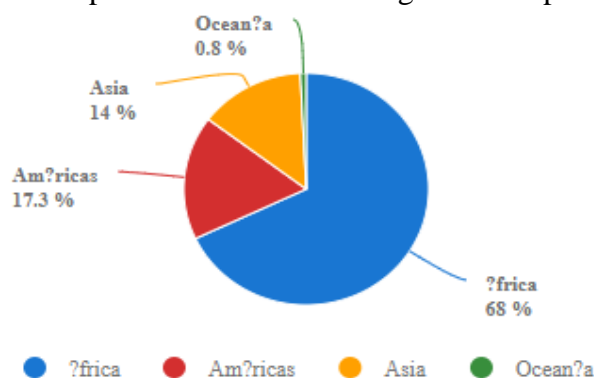
### **Producción**

#### ***Producción a Nivel Mundial***

A nivel mundial se exportan alrededor de 3,3 millones de toneladas de cacao en grano, el cual representa el 15 % en América Latina y el Caribe. El principal continente productor es África, mismo que cubre el 66% de la oferta mundial, seguido de Asia que produce el 17,5%. Sin embargo, las tendencias del cultivo durante la última década muestran que África creció solo un 3%, mientras que Asia cayó en un 17% y América

creció en un 11% (Arvelo Sánchez et al., 2017). Según los datos de la (FAO, 2020) el grano de cacao en los últimos años (2019-2020) obtuvo mayor porcentaje de producción en África con un 68%, seguido por América con un 17.3%, Asia con 14% y Oceanía con el 0.8%. A nivel Mundial los últimos 3 años de área cosechada de cacao fue de 24'416,385 hectáreas con una producción de 11,372,174 toneladas.

**Gráfico 1.** Proporción de producción de cacao en grano seco por región (2019-2020).



Fuente: FAOSTAT (2020)

### ***Producción a Nivel Nacional***

Según (Zambrano & Chávez, 2018), en 2017 el ministerio de agricultura y Ganadería, afirma que la producción de cacao seco (almendra) alcanzó 289,192 toneladas, en los últimos 15 años los 3 últimos se registró la mayor producción de cacao con un promedio de 293 mil toneladas.

Los pequeños Productores en Ecuador lideran la producción de cacao con el 95%, que poseen una superficie de siembra menor a 3 hectáreas (Barrezueta Unda et al., 2017). Los Ríos, Guayas, Manabí, Esmeraldas y el Oro son las provincias con mayor producción de cacao en el Ecuador alcanzando una superficie alrededor de 500 mil hectáreas (Pérez García et al., 2015).

## Requerimientos Edafoclimáticos

Las condiciones climáticas que afectan el óptimo desarrollo del cacao son principalmente la temperatura y la lluvia; no siendo menos el efecto del viento fuerte, la luz, radiación solar y la humedad relativa. Se adapta muy bien desde 0 msnm hasta los 800 msnm (Estrada et al., 2011).

## Principales Plagas y Enfermedades en El Cacao

### *Insectos Plagas*

**Pulgones (*Aphis gossypii*).** Estos insectos absorben la savia de las hojas nuevas, la mayor parte de estos insectos son transmisores de enfermedades virales y se los encuentra en las ramas, flores, frutos y chupones (Anchundia Flores & Mera Cevallos, 2015).

Según (Valarezo Cely et al., 2012), En la plantación de cacao el pulgón causa daños tanto en viveros como en la plantación final. Su longitud es aproximadamente de 1,0 a 2,0 mm de color gris oscuro, la reproducción de las hembras es de 6 a 8 ninfas por día, sin necesitar al macho para su reproducción.

### **Gráfico 2.** Colonia de Pulgones en hoja de cacao



Fuente: (Valarezo Cely et al., 2012)

**Cochinillas *Maconellicoccus hirsutus* (Green).** A nivel mundial la cochinilla afecta a más de 350 especies de 75 familias de plantas de importancia económica. Al momento de alimentarse las cochinillas hembras producen una saliva toxica que causan daños en la planta, originan mal formaciones en el crecimiento de los tejidos como en las ramas, hojas, flores y frutos (Ramírez et al., 2021).

Su aspecto es de color rojo, de forma ovalada El insecto es de color rojizo, alcanza un largo de 3mm, sin borde lateral ceroso, puede contener de 54 hasta 600 huevos el cual cumple un periodo de 29 días para completar su ciclo de huevo a adulto con una temperatura media de 27° (Ramírez et al., 2021).

**Chinche del cacao (*Monaloniondis simulatum* Dist.).** Es una de las plagas principales con mayor importancia que ataca al cacao, del orden Hemiptera familia Maridae, se lo conoce comúnmente como el chinche de cacao, el principal daño que ocasiona es directamente en la mazorca alimentándose afectando directamente su calidad, ocasionando condiciones óptimas para la transmisión de enfermedades como la monilia, mazorca negra, etc (Huaycho et al., 2017).

**Cerambycidae.** Este insecto plaga ataca a las partes aéreas de la planta en estados larval y adulto alimentándose del cambium vascular provocando galerías en el tallo y ramas, que podrían ocasionar según la edad de la planta su muerte (Morillo et al., 2008).

### ***Enfermedades***

**Phytophthora palmivora.** En el Ecuador la mazorca negra o pudrición de la mazorca provocada por el hongo *Phytophthora palmivora* es una de las principales plagas que causan daños graves en el cultivo de cacao (Anzules Toala et al., 2019). Según (Rodriguez Polanco et al., 2021) los síntomas son más visibles en el periodo de 2 a 4 días próximo a la inoculación y a partir del sexto u octavo día el nivel de infección son constante. Su síntoma más común es provocar lesiones en el fruto de color Marrón, ataca

al interior de la mazorca provocando pudrición de las semillas, dejando a las mazorcas de color negra y secas, para su control es bueno aplicar funguicidas a base de cobre, implementando labores fitosanitarias como la recolección de mazorcas enfermas (Sánchez et al., 2015).

**Escoba de bruja.** Esta enfermedad es provocada por el hongo basidiomiceto *Moniliophthora perniciosa*, es un organismo hemibiotrófico que tiene como ciclo de vida una fase llamada biotrófica la cual afecta al tejido en constante crecimiento como brotes, cojinetes florales o frutos, y una fase que ataca al tejido muerto de su huésped denominada saprobia. (Solís Hidalgo et al., 2021). La transmisión de esta enfermedad se da mediante tejidos como son las semillas, plántulas y frutos, las esporas se desarrollan en condiciones ambientales con alta humedad en donde penetran los tejidos nuevos mediante los estomas y epidermis (Martel Pariona & Vila Santiago, 2019).

**Monilia (*Moniliophthora roreri*).** Su origen se da en Países de América del Sur, como Ecuador y Colombia donde se presentaron los primeros síntomas del hongo en las plantaciones de cacao (Sánchez et al., 2015). En Latinoamérica los últimos diez años la producción fue menorando debido al incremento de infección de la moniliasis, por su adaptabilidad a las diferentes condiciones ambientales (Pabón et al., 2016).

### ***Sintomatología***

En la plantación de cacao ocasiona daños principalmente en el fruto, este patógeno puede causar daños en cualquier etapa de desarrollo de la planta, sin embargo, la etapa inicial es la más susceptible. Los síntomas se la pueden identificar presenciando externamente manchas aceitosas de forma circular de color amarillo y marrón (Villamil Carvajal. Jorge et al., 2012).

### ***Agente Causal***

En los años 1993 Ciferri y Parodi descubrieron cuál era el agente causal de la Moniliasis y lo nombraron *Monilia roreri*, poco tiempo después desarrollando estudios más detallados de la estructura de las hifas y el crecimiento de las conidias fue reclasificado en 1978 como *Moniliophthora roreri*. Sin embargo, con lo semejante que era su estructura biótica con *Crinipellis perniciososa* (Actualmente *Moniliophthora perniciososa*), en 2002 fue nuevamente reclasificado con el nombre de *Crinipellis roreri* que puede representar el estado asexual de *C. perniciososa*. Finalmente, mediante una caracterización molecular completa se vuelve de nuevo al género *Moniliophthora* (Cubillos et al., 2019).

### ***Tipos de Control***

**Químico.** El método químico para el control de moniliasis tiene efectos favorables, pero su alto precio es muy costoso, por lo que los productores buscan otras alternativas más económicas. Uno de los principales productos que se utilizan son los fungicidas a base de cobre, estos tienen mayor porcentaje de inhibición de las esporas de *Moniliophthora roreri*, el fungicida Azoxystrobin según varios estudios inhibe el 100% de la germinación de conidios y un 96% el crecimiento micelial, por lo que es recomendable el uso de un buen manejo integrado de plagas (MIP) (Anzules Toala et al., 2019).

**Biológico.** El control para *Moniliophthora roreri* se ha optado por microorganismos endófitos, estos microorganismos nos ayudan a mitigar el 60 % de los daños que causa este hongo en las cosechas de cacao y así disminuir su propagación (Suárez Contreras & Rangel Riaño, 2014). Según (Aragón & Beltrán Acosta, 2018), hicieron un estudio de la aplicación de *T. stromaticum* para el control del hongo M.



perniciosa obteniendo buenos resultados para el control del hongo. La aplicación de hongos endófitos se demostró que contienen metabolitos secundarios, ayudando a tener resistencia sobre el ataque de enfermedades provocadas por bacterias, nematodos y fitopatógenos.

**Cultural.** Es uno de los principales métodos que se emplean para combatir las enfermedades ocasionadas por hongos fitopatógenos, este control cultural consiste en labores dentro de la plantación como es la poda, remoción de mazorcas enfermas, manejo de sombra y densidad de población, aplicando estas labores se reduce un 50% en la incidencia de enfermedades dentro de la plantación de cacao (Guerrero et al., 2020).

### **Efectos de Extractos Vegetales en el Control de Fungicidas**

En el cacao no existe un control eficaz para el manejo de enfermedades, sin embargo, se han planteado nuevas alternativas para disminuir la propagación de hongos fitopatógenos, usando medidas que tenga un impacto ambiental bajo como son los extractos botánicos. Los extractos presentan características principales como metabolitos secundarios que ayudan a generar estrategias de defensa en los tejidos de la planta (Arcos Méndez et al., 2019).

### ***Metabolitos secundarios***

Los metabolitos pueden ser representados y cuantificados a través de diversos métodos y técnicas analíticas. Estos métodos se establecen dependiendo de la reacción del metabolito con el líquido reactante para conseguir productos coloridos que se dan mediante espectrofotometría de absorción molecular (Rodríguez Barriga, 2020).

### ***Tipos de Extractos Vegetales***

Para obtener extractos vegetales el proceso es variable, los componentes que se extraen son de los diferentes órganos vegetativos reproductivos, tales como raíces, hojas,

tallos, flores y frutos anticipadamente pulverizados a un tamaño de partícula específica y en contacto con el líquido solvente. Los tipos de extractos que se presentan son por extracción, percolación, arrastre con vapor y en la extracción soxhelt se obtienen extractos acuosos, aceites esenciales, etanólicos u otros solventes para obtener diversos compuestos acordes a su polaridad (Mesa et al., 2019).

**Extracto de Hierba Luisa.** Sus compuestos insecticidas poseen neral y geraniol, estos poseen propiedades larvicida, así como efectos inhibidores sobre ácaros, siendo esta una alternativa biológica para combatirlos. El aceite esencial, en varios estudios ha demostrado tener eficiencia antimicrobiana (Martínez-Ruiz & Larqué-Saavedra, 2018).

**Extracto de Orégano.** El extracto de orégano algunas de sus propiedades han sido estudiadas por su buena capacidad antioxidante y antimicrobiana contra patógenos como *Sallamonella typhimurim*, *Escherichia coli*, entre otros para sustituir los aditivos sintéticos en los alimentos. En la industria es muy importante su característica porque favorecen a la inocuidad y estabilidad de los alimentos contra algún patógeno (Arcila Lozano et al., 2004).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### **Ubicación**

El experimento se desarrolló en el laboratorio de fitopatología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, que pertenece a la Universidad Técnica de Machala (UTMACH), en la Av. Panamericana, 5,5 km vía Machala-Pasaje, parroquia El Cambio en el cantón Machala, provincia de El Oro.

### **Materiales y equipos**

#### *Equipos de laboratorio*

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

#### *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

### ***Material Vegetal***

- Orégano (*Origanum vulgare* L.)
- Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*)

### **Metodología**

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

La extracción de la mazorca CCN-51 con sintomatología de moniliasis, se extrajo del jardín clonal de la Universidad Técnica de Machala (UTMACH), se procedió a retirar la mazorca una vez identificado los síntomas y se colocó en fundas plásticas para evitar la esporulación de las esporas dentro de la plantación, una vez en el laboratorio se sacó muestras de micelio de *M. roreri* y se colocó dentro las cajas Petri con PDA, la primera siembra se evaluó durante 14 días y se seleccionó las mejores muestras para la purificación del hongo durante el mismo tiempo, a temperatura ambiente (25°C), una vez purificadas las muestras se utilizó las que tuvieron el mejor crecimiento micelial en el desarrollo del experimento.

#### ***Preparación de medio de cultivo PDA***

Para el experimento se preparó 1500 ml de medio de cultivo (PDA), y se utilizó 820 ml para el desarrollo de los tratamientos, para elaborar el medio de cultivo se pesa 20 de PDA por cada 500 ml de agua purificada, se lleva al microondas durante 3 minutos hasta observar una apariencia traslúcida y se coloca 60mg cloranfenicol se remueve y se afora con agua caliente hasta 500 ml en un vaso de precipitación, finalmente con una probeta se distribuye el PDA en botellas de vidrio en medidas de 70-80-90 ml de medio de cultivo, se procede a llevar al esterilizador (autoclave) donde se purifica durante 20 minutos.

### ***Preparación de extractos acuosos***

El material vegetal que se utilizó, se basó en el estudio de artículos científicos que indican, el uso de extractos vegetales ayudan en el control de hongos patógenos, para lo cual se utilizó las siguientes plantas por las propiedades y metabolitos secundarios presente en ellas:

- **Orégano** (*Origanum vulgare* L.)
- **Hierba Luisa** (*Cymbopogon citratus*)

Para la elaboración de los extractos acuosos con material vegetal seleccionado, se basó en la metodología de (Boiteux, Hapon, Fernández, Lucero, & Pizzuolo, 2015) en la cual se modificó el procedimiento en función de los tratamientos.

### ***Elaboración de los tratamientos***

Para la elaboración de los tratamientos utilizamos tres matraces Erlenmeyer donde colocamos el material fresco de las diferentes plantas, la dosificación que se usó en cada Erlenmeyer fue: 60gr de Orégano/180ml de agua destilada; 60gr de Hierba Luisa/180ml de agua destilada y una combinación de 30gr de Orégano – 30 gr de Hierba Luisa/ 180ml de agua destilada, se los lleva al autoclave y se lo deja durante 45 min para tener una buena esterilización y concentración de extracto puro, la relación final peso/volumen fue 1:3.

### ***Dosificación***

La dosis de que se estableció fue de 10-20- 30- ml de extracto de orégano, Hierba Luisa y el combinado, se colocó en 10 botellas de vidrio con PDA con medida conocida de 70-80- 90 ml, y como testigo absoluto utilizamos 100 ml de medio de cultivo, con el propósito de evidenciar la diferencia significativa de los tratamientos en relación al testigo.

## ***Siembra del hongo***

Una vez terminada la dosificación de los extractos, se procede a llevar a la cámara de flujo el hongo que previamente fue aislado y purificado, se plaquea las cajas Petri con el número de tratamientos a utilizar con los diferentes extractos (Orégano, Hierba Luisa, y Orégano - Hierba Luisa) se espera que se solidifique las cajas Petri con PDA , y se extrae un micelio del hongo *M. roreri* con la ayuda de un saca bocado y se lo coloca en la caja Petri con el extracto , se procede a sellar la caja con plástico para evitar cualquier contaminación se le hace una marca o una nomenclatura que indique el tratamiento y la dosis que se empleó, la toma de datos se realiza dos veces por semana durante 21 días para la medición del crecimiento micelial radial se realiza una división de la caja Petri en cuatro cuadrantes A-B-C-D y se obtiene los datos semana a semana.

### **Tratamientos con Extractos**

**Tabla 1.** Dosificación de los tratamientos aplicados en el control del hongo *M. roreri* a nivel in vitro.

<b>Tratamientos</b>	<b>Concentraciones (%/ml)</b>	<b>Extractos</b>	<b>Dosificación(ml) (PDA+EXTRACTO)</b>
<b>T1</b>	10	Orégano+PDA	90 + 10
<b>T2</b>	20	Orégano+PDA	80 + 20
<b>T3</b>	30	Orégano+PDA	70 + 30
<b>T4</b>	10	Hierba Luisa+PDA	90 + 10
<b>T5</b>	20	Hierba Luisa+PDA	80 + 20
<b>T6</b>	30	Hierba Luisa+PDA	70 + 30
<b>T7</b>	10	Orégano/Hierba Luisa + PDA	90 + 10
<b>T8</b>	20	Orégano/Hierba Luisa + PDA	80 + 20
<b>T9</b>	30	Orégano/Hierba Luisa + PDA	70 + 30
<b>T10</b>	100	PDA	100

## **Variable de estudio**

La variable de estudio a evaluar fue el crecimiento micelial de *Moniliophthora roreri* a nivel in vitro, en base a la aplicación de diferentes dosis de extractos acuosos de Orégano y Hierba Luisa.

## **Procedimiento estadístico**

### ***Diseño completamente al azar (DCA)***

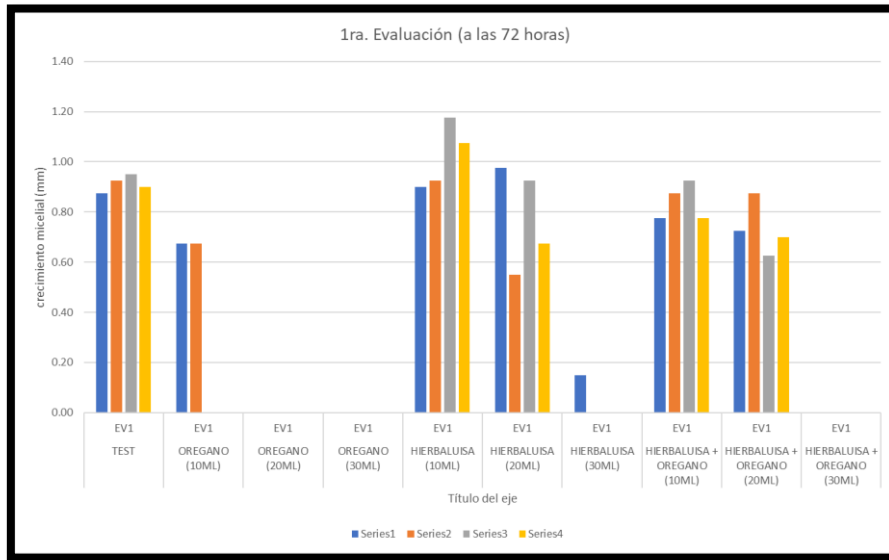
El diseño completamente al azar (DCA), es el más simple de todos los diseños estadísticos, donde solo se estudia el efecto de un factor el cual varía en diferentes tratamientos. Es muy útil en unidades experimentales homogéneas (UE), promoviendo el máximo número de grados libertad del error, flexibilidad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

$$Y_{kn} = \mu + T_k + \varepsilon \quad Y_{kn} = \mu + T_k + k_n$$

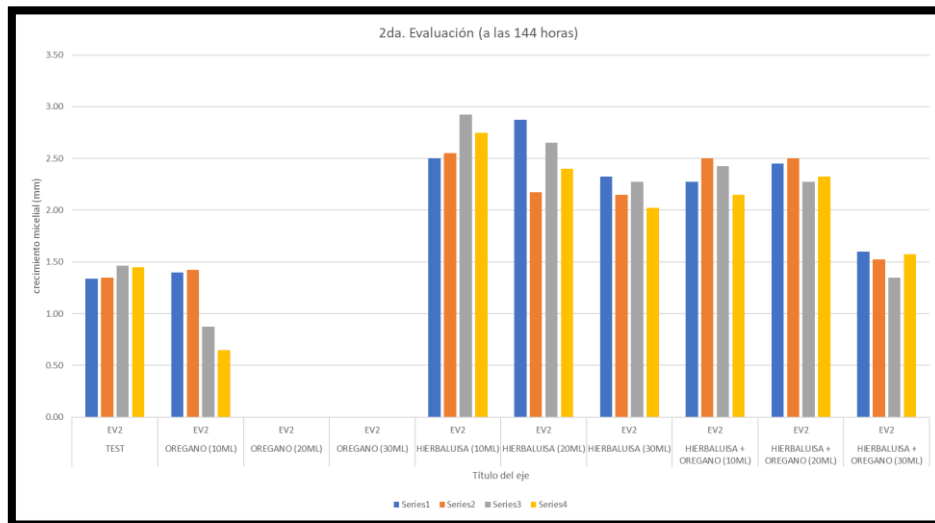
- $Y_{kn}$  = variable de respuesta
- $\mu$  = media global T
- $k$  = efecto del tratamiento

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Gráfico 3. Primera Evaluación**

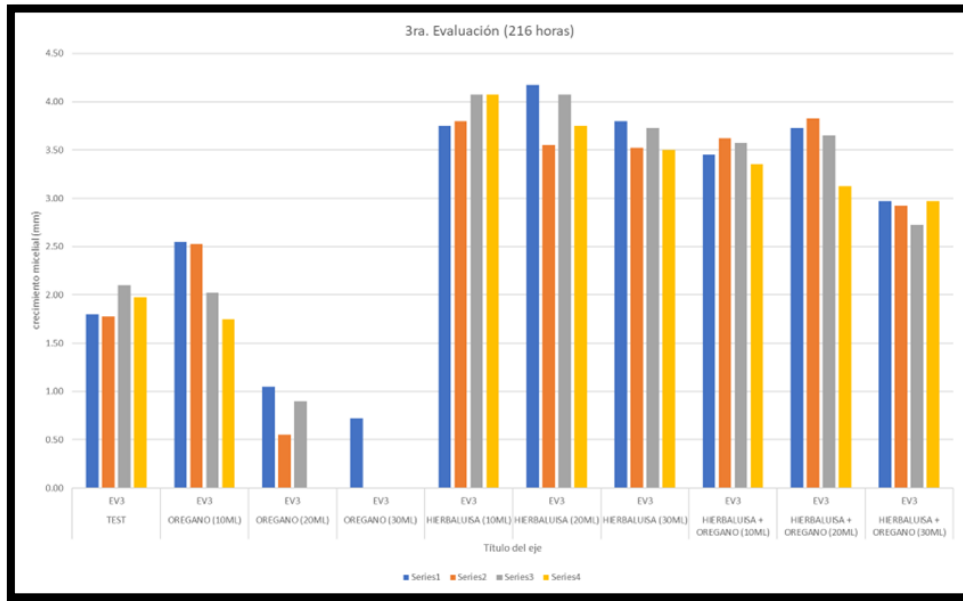


**Gráfico 4. Segunda Evaluación**

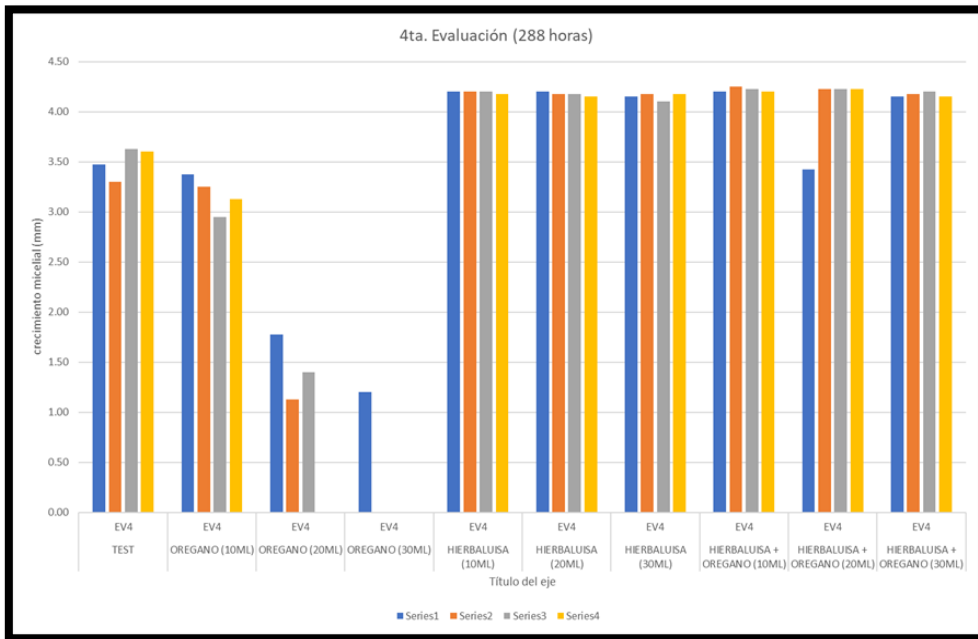




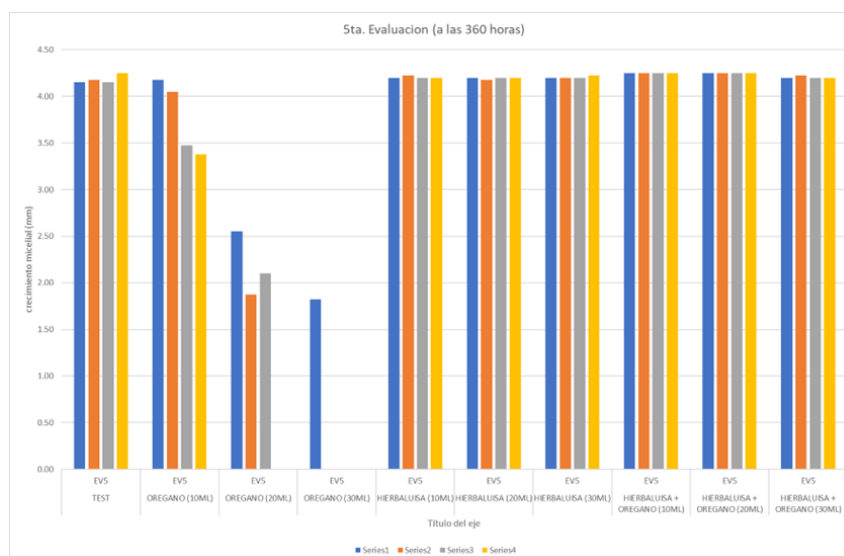
**Gráfico 5. Tercera Evaluación**



**Gráfico 6. Cuarta Evaluación**



**Gráfico 7. Quinta Evaluación**



Como se observa en los gráficos 3-4-5-6 y 7, las evaluaciones periódicas de los diferentes tratamientos se evidencia el buen control que mantiene sobre el crecimiento micelial del hongo fitopatógenos *M. rozeri*, destacando los tratamientos a base de extracto acuoso de orégano en las dosis 30% - 20% y 10%. Según (Caballero & Castro, 2018), indican que el aceite esencial de orégano está compuesto de terpenos, timol, fenoles y carvacrol, los cuales han mostrado efectos en la inhibición de hongos fitopatógenos.

Con los datos obtenidos en la investigación, se realizaron la prueba de normalidad y homocedasticidad, Shapiro-Wilks y Levene, para determinar si cumplen respectivamente cumplen con dichos supuestos. Se evidencio que los datos recopilados no tienen una varianza homogénea, ni una distribución normal, por lo tanto, se procedió a realizar un análisis no paramétrico mediante la prueba de Kruskal-Wallis.



al 10%); T2 (extracto acuoso de Orégano al 20%); T3 (extracto acuoso de Orégano al 30%), son estadísticamente superior al resto de tratamientos e iguales entre sí. Estos datos obtenidos son similares a los reportados (Andrade, y otros, 2017), que indican los aceites y extractos de orégano presenta actividad inhibitoria contra hongos fitopatógenos, donde actúa en la membrana citoplasmática, la degradación de la pared celular, daño de las proteínas y la coagulación del citoplasma. Él carvacrol presente en el orégano, presenta un mecanismo donde es capaz de desintegrar la membrana externa de las bacterias, provocando la salida de ATP e inhibiendo su actividad.

Por último, los tratamientos T4 (extracto acuoso de Hierba Luisa al 10%); T5 (extracto acuoso de Hierba Luisa al 20%); T6 (extracto acuoso de Hierba Luisa al 30%); T7 (extracto acuoso de Orégano + Hierba Luisa al 10%); T8 (extracto acuoso de Orégano + Hierba Luisa al 20%); T9 (extracto acuoso de Orégano + Hierba Luisa al 30%), como se observa en el cuadro comparación de medianas, no presentaron un efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial del hongo *Moniliophthora roreri* a nivel in vitro, es decir son estadísticamente iguales en relación al T10 (testigo absoluto).

## CONCLUSIONES

- En condiciones controladas de laboratorio, los tratamientos que presentaron mayor efecto inhibitorio fueron T1 (extracto acuoso de Orégano al 10%); T2 (extracto acuoso de Orégano al 20%); T3 (extracto acuoso de Orégano al 30%) son estadísticamente iguales y superiores al resto de los tratamientos.
- Los tratamientos los tratamientos T4 (extracto acuoso de Hierba Luisa al 10%); T5 (extracto acuoso de Hierba Luisa al 20%); T6 (extracto acuoso de Hierba Luisa al 30%); T7 (extracto acuoso de Orégano + Hierba Luisa al 10%); T8 (extracto acuoso de Orégano + Hierba Luisa al 20%); T9 (extracto acuoso de Orégano + Hierba Luisa al 30%), no tuvieron efecto inhibitorio sobre el hongo *Moniliophthora roreri*, es decir son estadísticamente iguales al testigo absoluto.
- Se observó que en la combinación de extractos acuoso de Orégano y Hierba luisa, no hubo una sinergia entre sí, y se perdió el efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial de *Moniliophthora roreri*.

## RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar estudios en campo, aplicando diferentes concentraciones y tipos de extractos que inhiban el crecimiento micelial de distintos hongos fitopatógenos.
- Dado los resultados bastantes satisfactorios del extracto acuoso de orégano en dosis de 10ml -20ml - y 30ml, probar en futuras investigaciones con aceites esenciales en dosis más bajas.
- Realizar más estudios enfocados al uso de extractos botánicos, con potencial antifúngico como una alternativa de control al manejo de enfermedades ocasionadas por hongos fitopatógenos, bajo el contexto de una agricultura que minimice el impacto ambiental.

## REFERENCIAS

- Anchundia Flores, K., & Mera Cevallos, S. (2015). “*COMPORTAMIENTO AGRONÓMICO PRELIMINAR DE SEIS CLONES DE CACAO TIPO NACIONAL (Theobroma cacaoL.) EN EL CANTÓN SANTA ELENA.*” 1–124.
- 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 UNCUYO*, 127-142.
- Anecacao. (2019). *SECTOR EXPORTADOR DE CACAO*.  
<https://anecacao.com/index2022.html>
- Anzules Toala, V., Borjas Ventura, R., Alvarado Huamán, L., Castro-Cepero, V., Julca-Otiniano, A., Molina Av La Molina, L., & Molina Lima Perú, L. (2019). Control cultural, biológico y químico de *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* spp en *Theobroma cacao* “CCN-51” Cultural, biological and chemical control of *Moniliophthora roreri* and *Phytophthora* spp in *Theobroma cacao* “CCN-51.”  
<https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.04.08>
- Aragón, S. M., & Beltrán Acosta, C. (2018). *Aplicaciones y perspectivas Endophytic fungi in biological control of phytopathogens and insect pests.*
- Arcila Lozano, C., Loarca Piña, G., Lecona Uribe, S., & González de Mejía, E. (2004, March). *El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes.* [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222004000100015](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000100015)
- Arcos Méndez, M., Martínez Bolaños, L., Ortiz Gil, G., Martínez Bolaños, M., & Avendaño Arrazate, C. (2019). EFECTO IN VITRO DE EXTRACTOS VEGETALES CONTRA LA MONILIASIS (*Moniliophthora roreri*) DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.). In *Rev. Agricultura Tropical* (Vol. 5, Issue 1).
- Arvelo Sánchez, M., González León, D., Maroto Arce, S., Delgado López, T., & Montoya Rodríguez, P. (2017). *Manual Técnico del Cultivo de Cacao Prácticas Latinoamericanas.* [www.iica.int](http://www.iica.int).

- Barrezueta Unda, S., Prado Carpio, E., & Jimbo Sarmiento, R. (2017). Características Del Comercio De Cacao A Nivel. 13(16), 1857–7881. <https://doi.org/10.19044/esj.2017.v13n16p273>
- Boiteux, J., Hapon, 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. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, vol. 47, núm. 1, 241-250.
- Caballero, M., & Castro, H. (2018). ANÁLISIS IN VITRO DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE ACEITES ESENCIALES DE ORÉGANO Y TOMILLO EN HONGOS FITOPATÓGENOS DEL ARROZ (*Oryza sativa* L.). *Ciencia e Ingeniería Vol. (5)*, 1-11.
- Cubillos, G., Restrepo Quiroz, T., & Hincapié Echeverría, O. (2019). *LA MONILIASIS DEL CACAO: DAÑOS, SÍNTOMAS, EPIDEMIOLOGÍA Y MANEJO*. 1–28.
- Enríquez Calderon, G., & Paredes Pérez, A. (1919). *El cultivo del cacao - Gustavo A. Enríquez* - Google Libros. [https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=3JRfK0v\\_pYMC&oi=fnd&pg=PA5&dq=%C3%A1rbol+de+cacao&ots=w77LlSpu0C&sig=4O9byuxfJF9QcIQ6nboAXJgai2o#v=onepage&q=%C3%A1rbol%20de%20cacao&f=false](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=3JRfK0v_pYMC&oi=fnd&pg=PA5&dq=%C3%A1rbol+de+cacao&ots=w77LlSpu0C&sig=4O9byuxfJF9QcIQ6nboAXJgai2o#v=onepage&q=%C3%A1rbol%20de%20cacao&f=false)
- Estrada, J., Romero, X., & Moreno, J. (2011). *Guía técnica del cultivo de cacao manejado con técnicas agroecológicas*. 1–22.
- FAO. (2020). *FAOSTAT*. <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL/visualize>
- Guerrero, R., Cevallos, O., Eguez, E., & Peñaherrera, S. (2020). *The potential of the use of endophytic microorganisms as disease control agents in cocoa (*Theobroma cacao* L.)*. <https://orcid.org/0000-0002-7609-3480><https://orcid.org/0000-0002-4137-7133><https://orcid.org/0000-0002-7071-4645><http://centrosuragraria.com/index.php/revista>
- Huaycho, H., Casto, C. ;, Fuentes, M., Fernando, ;, Delgado, M., de Bioinsecticidas En, A., Región, L. A., Los, D. E., de Bolivia, Y., Huaycho Callisaya, H., & Casto, ; (2017). *Control of the cocoa bug (*Monaloniondis simulatum* Dist.) With application of bioinsecticides in the Yungas region of Bolivia*. 4, 31–39.



- Lanaud, C., Solórzano, R. L., Zarrillo, S., & Valdez, F. (2012). *El producto tradicional ecuatoriano Origen de la domesticación del y su uso temprano en Ecuador*.
- León, F., Calderón, J., & Mayorga, E. (Junio 2016). Estrategias para el cultivo, comercialización y exportación del cacao fino de aroma en Ecuador. *Revista Ciencia UNEMI Vol. 9 - N° 18*, 45 - 55.
- Martel Pariona, S., & Vila Santiago, A. (2019). (1) *Principales enfermedades de los frutos del cacao en el valle de los ríos Apurímac, Ene y Mantaro-Perú | Alejandro Vila Santiago* - *Academia.edu*.  
[https://www.academia.edu/38582485/Principales\\_enfermedades\\_de\\_los\\_frutos\\_del\\_cacao\\_en\\_el\\_valle\\_de\\_los\\_r%C3%ADos\\_Apur%C3%ADmac\\_Ene\\_y\\_Mantaro\\_Per%C3%BA](https://www.academia.edu/38582485/Principales_enfermedades_de_los_frutos_del_cacao_en_el_valle_de_los_r%C3%ADos_Apur%C3%ADmac_Ene_y_Mantaro_Per%C3%BA)
- Martínez-Ruiz, N., & Larqué-Saavedra, A. (2018). Semilla de Ramón. *Alimentos Vegetales Autóctonos Iberoamericanos Subutilizados*, 1–24.
- Mendoza Vargas, E., Boza Valle, J., & Manjarrez Fuentes, N. (2021). Impacto socioeconómico de la producción y comercialización del cacao de los pequeños productores del cantón Quevedo. *REVISTA CIENTÍFICA ECOCIENCIA*, 8, 255–272. <https://doi.org/10.21855/ecociencia.80.603>
- Mesa, V., Marín, P., Ocampo, O., Calle, J., & Monsalve, Z. (2019). *Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos*. 1–8. <http://ria.inta.gov.ar/sites/default/files/revisiones/mesa-castellano-2.pdf>
- Morillo, F., Sánchez, P., Girón, C., Calera, A., Muñoz, W., & Guerra, J. (2008). *Comportamiento de híbridos de cacao (Theobroma cacao) al ataque de Steirastoma breve (Coleoptera: Cerambycidae)*.  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-04882008000200003](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-04882008000200003)
- Pabón, M., Herrera, L., & Sepúlveda, W. (2016). *Revista Mexicana de Agronegocios*. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 38, 283–294.  
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=14146082001>

- Palate Mazo, R. (2019). “Reconocimiento de las plagas y enfermedades en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la parroquia Ricaurte, cantón San Lorenzo, Provincia de Esmeraldas 2019” *UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO*. 1–32.
- Pérez García, G., Chimborazo Sarabia, C., & Freile Almeida, J. (2015). *Caracterización in Situ de La Variabilidad Morfológica Del Cacao (Theobroma Cacao L.) de La Provincia de Pastaza. In Situ Characterization of the Morphological Variability in Cocoa (Theobroma Cacao L.) from Pastaza Province.*, 1–20.
- Ramírez, G., Ramos Hernández, E., Hernández Lara, P., & López Dominguez, I. (2021, March 15). *Cochinilla rosada en plantaciones de cacao*. <http://agroregion.com/articulo?id=545>
- Rodríguez Barriga, K. (2020). “Extracción y caracterización de metabolitos secundarios (polifenoles y flavonoides) obtenidos a partir de Pujín (*Hesperomeles ferruginea*) planta nativa del cerro Teligote.” *UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN*.
- Rodriguez Polanco, E., Parra Alferes, E. B., Bermeo Fuquene, P. A., Segura Amaya, J. D., & Rodríguez Polanco, L. A. (2021). Managing the black pod disease (*Phytophthora palmivora*) in cocoa by joint application of cultural and chemical practices (Vol. 16).
- Sánchez, C. M., Jaramillo Aguilar, E., & Ramírez Morales, I. (2015). *Enfermedades del cacao Universidad Técnica de Machala*.
- Solis Hidalgo, K., Peñaherrera Villafuerte, S., & Vera Coello, D. (2021). *GUÍA No. 178 LAS ENFERMEDADES DEL CACAO Y LAS BUENAS PRÁCTICAS AGRONÓMICAS PARA SU MANEJO* (Primera Edición). [www.iniap.gob.ec](http://www.iniap.gob.ec)
- Suárez Contreras, Y. L., & Rangel Riaño, A. L. (2014). *Aislamiento de microorganismos para control biológico de Moniliophthora roreri Isolation of microorganisms for biological control of Moniliophthora roreri*.
- Valarezo Cely, O., Cañarte Bermúdez, E., & Navarrete Cedeño, B. (2012). *Asociados al cultivo de Cacao en Manabí*.
- Villamil Carvajal. Jorge, Blanco Valbuena, J., & Viteri Rosero, S. (2012). Evaluación in vitro de Microorganismos Nativos por su Antagonismo contra *Moniliophthora*

*roreri* Cif & Par en Cacao (*Theobroma cacao* L.) *Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín*. 1–13. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179924340002>

Zambrano, J. L., & Chávez, E. F. (2018). *Diagnóstico del Estado del Arte de la Cadena de Valor del Cacao en América Latina y El Caribe*. 1–82.

## ANEXOS

### Anexo 1. Preparación de medio de cultivo (PDA)



## Anexo 2. Aislamiento y purificación del hongo



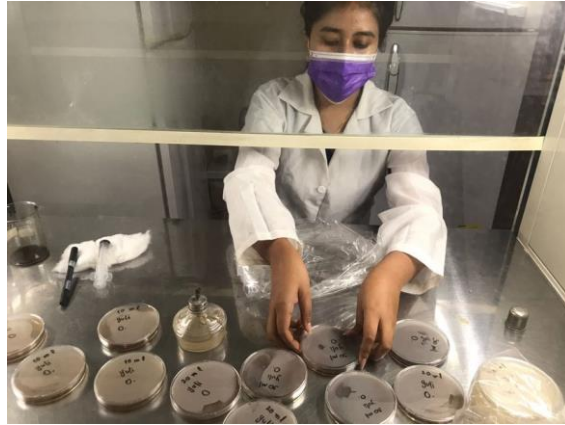
## Anexo 3. Elaboración de extractos acuosos





**Anexo 4. Plaqueo y siembra de tratamientos**





**Anexo 5.** Crecimiento micelial de los tratamientos

