



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y FORESTALES
CARRERA DE AGRONOMÍA

Trabajo de Integración Curricular
previo a la obtención del Grado
Académico de Ingeniero
Agrónomo.

Proyecto de Investigación:

“VALIDACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES DE *Rottboellia cochinchinensis* (Lour)
W.D. COMO FITO FUNGICIDA AGRÍCOLA”

Autor:

Josué Daniel Kang Moscoso

Director del Proyecto de Investigación:

Ing. Pablo Cesar Ramos Corrales, PhD.

QUEVEDO - LOS RÍOS –ECUADOR

2023



DECLARACIÓN DE AUTORIA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Josué Daniel Kang Moscoso**, declaro que la investigación aquí descrita es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este documento, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

Josué Daniel Kang Moscoso

C.C: 1207100098



CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

El suscrito, **Ing. Pablo Cesar Ramos Corrales, PhD.** Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que el estudiante **Josué Daniel Kang Moscoso**, realizó el proyecto de Investigación de Grado titulado “**Validación de extractos vegetales de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour) W.D. como fito fungicida agrícola**”, previo a la obtención del Grado Académico de **Ingeniero Agrónomo**, bajo mi dirección, habiendo cumplido con todas las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

.....

Ing. Pablo Cesar Ramos Corrales, PhD.
DIRECTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO

El suscrito, **Ing. Pablo Cesar Ramos Corrales, PhD.**, mediante el presente cumpla en presentar a usted, el informe de proyecto de Investigación titulado “**Validación de extractos vegetales de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour) W.D. como fito fungicida agrícola**”, presentado por el estudiante **Josué Daniel Kang Moscoso**, egresado de la Carrera de Agronomía que fue revisado bajo mi dirección según resolución del Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, que se ha desarrollado de acuerdo al Reglamento de la Unidad de Integración Curricular de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo y cumple con el requerimiento de análisis de URKUND el cual avala los niveles de originalidad en un 98% y similitud 2%, del trabajo investigativo. Valido este documento para que el estudiante siga con los trámites pertinentes, de acuerdo como lo establece el Reglamento.

Document Information

Analyzed document	Urkund Josué Kang.docx (D180806524)
Submitted	2023-12-04 17:43:00 UTC+01:00
Submitted by	Angel Virgilio Cedeño Moreira
Submitter email	acedenom@uteq.edu.ec
Similarity	2%
Analysis address	acedenom.uteq@analysis.orkund.com

.....

Ing. Pablo Cesar Ramos Corrales, PhD.
DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y FORESTALES
CARRERA DE AGRONOMÍA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

“Validación de extractos vegetales de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour) W.D. como fito fungicida agrícola”

Presentado al Consejo Directivo de Facultad como requisito previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo.

Aprobado por:

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Hayron Fabricio Canchignia Martínez, PhD.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. Víctor Manuel Guamán Sarango, PhD.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Darío Fernando Herrera Jácome, MSc.

QUEVEDO – LOS RÍOS – ECUADOR

2023

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por permitirme este momento, cuidarme a lo largo de todos mis años de estudiante universitaria y brindarme la sabiduría de realizar este proyecto.

A la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, en cuyas aulas pude educarme con profesores que fueron guías para mi formación profesional y a los cuales he llegado a apreciar.

A los responsables de los laboratorios Ing. Angel Cedeño MSc. y Ing Eric García de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, en cuyas instalaciones pude guiarme bajo sus enseñanzas. También a Vanessa Arellano, Genesis Molina, Daysi Puente, David Gaibor, Jorge Ponce y Kevin Cárdenas que fueron compañeros extraordinarios para la realización de este proyecto, los cuales fueron parte fundamental para mi desarrollo investigativo.

A mi director de Tesis Ing. Pablo Ramos Corrales, PhD., a quien siempre le estaré infinitamente agradecido por todo el tiempo, paciencia y ayuda a encontrar la salida ante circunstancias adversas cuando veía todo muy difícil e imposible en el transcurso de la culminación del trabajo de investigación.

Mis padres, por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad, los pilares que me han brindado su apoyo desde el primer momento, siempre siendo esa ayuda sin esperar nada a cambio, velando por mi bienestar y motivándome constantemente para alcanzar mis metas.

DEDICATORIA

Dedico este proyecto a mi familia; papá Daniel Kang, abuela materna Paulina Zamora, pero sobre todo a mi abuela la Ing. Sonia Barzola porque día a día estuvo ahí en cada momento bueno y malo, aunque el proceso no ha sido nada sencillo, por inculcarme buenos valores, ser esa persona tan abnegada hacia mí, mis logros siempre serán dedicados para ti, porque para mí tú eres la definición de amor y gratitud infinita.

A mi hijo Igor Kang, hoy, mientras finalizo este largo y arduo camino que representa mi etapa universitaria, quiero dedicarte estas palabras, has sido mi mayor inspiración, mi fuerza inquebrantable y mi razón para nunca rendirme. En cada desvelo, recuerdo tu sonrisa radiante, tus ojos y tu inocencia de niño. A medida que creces, deseo que siempre sigas tus pasiones y sueños con determinación, nunca olvides que eres capaz de alcanzar cualquier meta, siempre y cuando pongas todo tu corazón en ello. Que estas palabras sean un recordatorio de que siempre estaré aquí para acompañarte en tu propio viaje y celebrar tus éxitos. Eres mi mayor logro y mi mayor alegría.

A Dayanara Moreira, mi esposa y madre de mi hijo, agradezco su incondicional amor y aceptación, siendo mi sólido apoyo tanto en mi trayecto universitario como en la vida misma. Su amor y comprensión han sido fundamentales para mí, aceptándome tal como soy te quiere mucho Josué.

Josué Daniel Kang Moscoso

RESUMEN

Los extractos vegetales de *Rottboellia cochinchinensis* poseen propiedades alelopáticas, lo que les permite combatir patógenos del cacao *Moniliophthora roreri* y *Lasiodiplodia theobromae*, inhibiendo sus esporas y proporcionando así una alternativa orgánica y sostenible a los fungicidas químicos para el manejo de enfermedades agrícolas. El objetivo de este proyecto fue analizar los extractos vegetales de *R. cochinchinensis* (Lour) W.D. para evaluar su potencial actividad fitofungicida en la agricultura. los hongos se cultivaron en medio PDA a un pH de 5.7, con alternancia de luz y oscuridad (16/8 horas) a una temperatura de 26-28°C durante 7 días. Con 20 mL del extracto se incubó en PDA con 1 mL de extracto y distribuyéndolo en placas Petri, inoculando con micelio de 0,8 cm. Las evaluaciones se realizaron a 3, 5 y 7 días midiendo el diámetro de colonias del micelio. Se empleó un DCA con tres repeticiones por tratamiento. se encontró que el extracto hidroalcohólico fue el más efectivo, mostrando una diferencia significativa en términos de inhibición, con un porcentaje más alto. Este extracto redujo la esporulación de los patógenos de manera más eficaz que los otros extractos evaluados. Por otro lado, el extracto de alcohol al 100% resultó ser el menos eficaz, exhibiendo un menor porcentaje de inhibición y un crecimiento micelial más similar al grupo de control. Sin embargo, en comparación con el fungicida Ridomil, los extractos vegetales no lograron igualar su efectividad, ya que Ridomil prácticamente detuvo casi por completo el crecimiento micelar de los hongos. Los extractos vegetales de *R. cochinchinensis* muestran potencial como agentes fitofungicidas contra *M. roreri* y *L. theobromae*, ofreciendo una alternativa orgánica y sostenible a los fungicidas químicos en la agricultura.

Palabras clave: Alelopáticas, fito fungicida, micelar, inhibición, patógenos.

ABSTRACT

The plant extracts of *Rottboellia cochinchinensis* have allelopathic properties, which allows them to combat cocoa pathogens *Moniliophthora roreri* and *Lasiodiplodia theobromae*, inhibiting their spores and thus providing an organic and sustainable alternative to chemical fungicides for the management of agricultural diseases. The objective of this project was to analyze the plant extracts of *R. cochinchinensis* (Lour) W.D. to evaluate its potential phytofungicidal activity in agriculture. The fungi were grown in PDA medium at a pH of 5.7, with alternating light and darkness (16/8 hours) at a temperature of 26-28°C for 7 days. With 20 mL of the extract, it was incubated in PDA with 1 mL of extract and distributed in Petri dishes, inoculating with 0.8 cm mycelium. The evaluations were carried out at 3, 5 and 7 days by measuring the diameter of mycelium colonies. A DCA was used with three repetitions per treatment. It was found that the hydroalcoholic extract was the most effective, showing a significant difference in terms of inhibition, with a higher percentage. This extract reduced pathogen sporulation more effectively than the other extracts tested. On the other hand, the 100% alcohol extract turned out to be the least effective, exhibiting a lower percentage of inhibition and a mycelial growth more similar to the control group. However, compared to the fungicide Ridomil, plant extracts failed to match its effectiveness, as Ridomil virtually stopped the micellar growth of fungi almost completely. Plant extracts of *R. cochinchinensis* show potential as phytofungicidal agents against *M. roreri* and *L. theobromae*, offering an organic and sustainable alternative to chemical fungicides in agriculture.

Keywords: Allelopathic, phytofungicide, mycelial, inhibition, pathogens.

TABLA DE CONTENIDO

Portada	i
Declaración de autoria y cesión de derechos	ii
Certificación de culminación del trabajo de integración curricular	iii
Certificado del reporte de la herramienta de prevención de coincidencia y/o plagio académico	iv
Certificado de aprobación por tribunal de sustentación	v
Agradecimiento	vi
Dedicatoria.....	vii
Resumen	viii
Abstract.....	ix
Tabla de contenido.....	x
Código dublín	xvii
Introducción.....	1
CAPÍTULO I	3
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
1.1. Problema de investigación.....	4
1.1.1. <i>Planteamiento del problema</i>	4
1.1.2. <i>Formulación del problema</i>	5
1.1.3. <i>Sistematización del problema</i>	5
1.2.Objetivos.....	6
1.2.1. <i>Objetivo general</i>	6
1.2.2. <i>Objetivos específicos</i>	6
1.3. Justificación	7
CAPÍTULO II.....	8
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	8
2.1. Marco conceptual	9
2.1.1. <i>Extractos vegetales</i>	9
2.1.2. <i>Caminadora</i>	9

2.1.3. <i>Fungicida</i>	9
2.1.4. <i>Fito fungicida</i>	9
2.1.5. <i>Maceración</i>	10
2.2. Marco referencial.....	10
2.2.1. <i>Rottboelia cochinchinensis</i>	10
2.2.1.1. <i>Clasificación taxonómica</i>	10
2.2.1.2. <i>Hábitat</i>	10
2.2.1.3. <i>Distribución</i>	11
2.2.1.4. <i>Distribución altitudinal</i>	11
2.2.1.5. <i>Influencia del ser humano sobre su distribución local o regional</i>	11
2.2.1.6. <i>Descripción morfológica</i>	12
2.2.1.7. <i>Ecología</i>	12
2.2.1.8. <i>Capacidad alelopática de la caminadora Rottboellia cochinchinensis.</i>	13
2.2.1.9. <i>Importancia de la caminadora en la agricultura</i>	13
2.2.2. <i>Hongos fitopatógenos</i>	13
2.2.2.1. <i>Características generales de los hongos</i>	13
2.2.2.2. <i>Morfología</i>	14
2.2.2.3. <i>Reproducción de los hongos</i>	15
2.2.2.4. <i>Ecología de los hongos.</i>	15
2.2.2.5. <i>Diseminación de los hongos</i>	16
2.2.3. <i>Moniliophthora roreri</i>	16
2.2.3.1. <i>Síntomas</i>	17
2.2.3.2. <i>Ciclo de vida</i>	17
2.2.4. <i>Lasidiodiplodia theobromae</i>	18
2.2.4.1. <i>Síntomas</i>	19
2.2.4.2. <i>Ciclo de vida</i>	19
2.2.5. <i>Extractos vegetales</i>	20

2.2.5.1. <i>Tipos de extractos vegetales</i>	20
2.2.5.2. <i>Métodos de extracción y caracterización de extractos vegetales</i>	22
2.2.6. <i>Metabolitos secundarios</i>	23
2.3. <i>Revisión histórica del tema en estudio</i>	25
CAPÍTULO III	31
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	31
3.1. <i>Localización</i>	32
3.2. <i>Tipo de investigación</i>	32
3.3. <i>Métodos de investigación</i>	32
3.4. <i>Fuentes de recopilación de la información</i>	33
3.4.1. <i>Fuente primaria</i>	33
3.4.2. <i>Fuente secundaria</i>	33
3.5. <i>Diseño de la investigación</i>	33
3.5.1. <i>Tratamientos</i>	33
3.5.1.1. <i>Diseño experimental</i>	34
3.6. <i>Instrumentos de investigación</i>	35
3.6.1. <i>Manejo del experimento</i>	35
3.6.1.1. <i>Recolección de la Rottboellia cochinchinensis</i>	35
3.6.1.2. <i>Extracción con solventes polares</i>	35
3.6.1.3. <i>Extracción acuosa</i>	35
3.6.1.4. <i>Pruebas químicas</i>	36
3.6.1.5. <i>Aislamiento de Moniliophthora roreri</i>	36
3.6.2. <i>Variables evaluadas</i>	36
3.6.2.1. <i>Rendimiento seco de Rottboellia cochinchinensis (lour) w.d.</i>	36
3.6.2.2. <i>Rendimiento del extracto de Rottboellia cochinchinensis (lour) w.d.</i>	37
3.6.2.3. <i>Determinación de metabolitos secundarios</i>	37
3.6.2.4. <i>Porcentaje de inhibición</i>	40
3.7. <i>Tratamiento de datos</i>	40
3.8. <i>Recursos humanos y materiales</i>	41

3.8.1. Recursos humanos	41
3.8.2. Recursos materiales.....	41
3.8.3. Equipos	41
3.8.4. Material biológico	42
3.8.5. Materiales de oficina	42
CAPÍTULO IV	43
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
4.1. Resultados.....	44
4.1.1. Rendimiento seco de <i>Rottboellia cochinchinensis</i> (lour) w.d.....	44
4.1.2. Rendimiento del extracto de <i>Rottboellia cochinchinensis</i> (lour) w.d.....	44
4.1.3. Determinación de metabolitos secundarios	45
4.1.4. Porcentaje de inhibición micelar de la <i>Moniliophthora roreri</i>	46
4.2. Discusión	52
CAPÍTULO V	53
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	53
5.1. Conclusiones.....	54
5.2. Recomendaciones	55
CAPÍTULO VI	56
BIBLIOGRAFÍA	56
6.1. Bibliografía.....	57
CAPÍTULO VII	65
ANEXOS	65
7.1. Anexos.....	66

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tratamientos de estudio.....	34
Tabla 2. Esquema del análisis de varianza	34
Tabla 3. Rendimiento del peso seco de la muestra puesta a secar en diferentes temperaturas.	44
Tabla 4. Rendimiento del extracto seco.....	44
Tabla 5. Metabolitos secundarios presentes en los extractos vegetales luego se realizar una prueba química.	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de inhibición de <i>M. royeri</i> al tercer, quinto y séptimo día después de inoculados los extractos vegetales.....	47
Figura 2. Porcentaje de inhibición de <i>M. royeri</i> , en la parte superior se muestran las horas de evaluación y en el costado izquierdo muestra los diferentes tratamientos.....	48
Figura 3. Porcentaje de inhibición de <i>L. theobromae</i> al tercer quinto y séptimo día después de inoculados los extractos vegetales.....	50
Figura 4. Crecimiento de <i>L. theobromae</i> , en la parte superior se muestran las horas de evaluación y en el costado izquierdo muestra los diferentes tratamientos.	51

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A. Corte y pesado de la muestra.	66
Anexo B. Implementación de etanol y reposo de las muestras.	66
Anexo C. Extracción del solvente de la <i>Rottboellia conchinchinensis</i> con el equipo llamado “rotavapor”	66
Anexo D. Proceso de inoculación de los extractos vegetales.....	67
Anexo E. Aislamiento de <i>Moniliophthora roreri</i> y <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	67
Anexo F. Análisis de varianza de inhibición micelar al tercer día de <i>M. roreri</i> sobre la inoculación de los extractos vegetales.	67
Anexo G. Análisis de varianza de inhibición micelar al quinto día de <i>M. roreri</i> sobre la inoculación de los extractos vegetales.	68
Anexo H. Análisis de varianza de inhibición micelar al séptimo día de <i>M. roreri</i> sobre la inoculación de los extractos vegetales.	68
Anexo I. Análisis de varianza de inhibición micelar al tercer día de <i>L. theobromae</i> sobre la inoculación de los extractos vegetales.	68
Anexo J. Análisis de varianza de inhibición micelar al quinto día de <i>L. theobromae</i> sobre la inoculación de los extractos vegetales.	69
Anexo K. Análisis de varianza de inhibición micelar al séptimo día de <i>L. theobromae</i> sobre la inoculación de los extractos vegetales.....	69

CÓDIGO DUBLÍN

Título:	Validación de extractos vegetales de <i>Rottboellia cochinchinensis</i> (Lour) W.D. como Fito fungicida agrícola
Autor:	<u>Kang Moscoso, Josué Daniel</u>
Palabras clave:	Alelopáticas, fito fungicida, micelar, inhibición, patógenos.
Fecha de publicación:	2023
Editorial:	Quevedo: UTEQ, 2023
Resumen:	Los extractos vegetales de <i>Rottboellia cochinchinensis</i> poseen propiedades alelopáticas, lo que les permite combatir patógenos del cacao <i>Moniliophthora roreri</i> y <i>Lasiodiplodia theobromae</i> , inhibiendo sus esporas y proporcionando así una alternativa orgánica y sostenible a los fungicidas químicos para el manejo de enfermedades agrícolas. El objetivo de este proyecto fue analizar los extractos vegetales de <i>R. cochinchinensis</i> (Lour) W.D. para evaluar su potencial actividad fitofungicida en la agricultura (...).
Abstract:	The plant extracts of <i>Rottboellia cochinchinensis</i> have allelopathic properties, which allows them to combat cocoa pathogens <i>Moniliophthora roreri</i> and <i>Lasiodiplodia theobromae</i> , inhibiting their spores and thus providing an organic and sustainable alternative to chemical fungicides for the management of agricultural diseases. The objective of this project was to analyze the plant extracts of <i>R. cochinchinensis</i> (Lour) W.D. to evaluate its potential phytofungicidal activity in agriculture (...).
Descripción:	86 hojas: dimensiones, 29 x 21 cm + CD-ROM 6162
URL:	

Introducción

Moniliophthora roreri y *Lasiodiplodia theobromae* son dos enfermedades originarias de América del Sur, de distribución geográfica limitada y con un fuerte impacto en la producción de cultivos como el cacao (Moreira *et al.*, 2021; Pérez, 2018).

En la lucha contra enfermedades que afectan a las plantas, se recurre a los fungicidas sintéticos como método de control. No obstante, su uso excesivo puede desencadenar daños fisiológicos en estos organismos vegetales. La precaución en la aplicación de estos productos químicos se vuelve imperativa para evitar cualquier repercusión negativa en la salud humana, animal y el entorno ambiental (Zuccarelli, 2019; Ruano, 2019).

Las plantas han desarrollado un sistema de defensa fascinante y altamente eficiente contra las amenazas fúngicas que enfrentan en su entorno (Camacho *et al.*, 2020). Una de las estrategias más impresionantes es su habilidad para producir compuestos antifúngicos de manera natural. Estos compuestos, presentes en diversas partes de la planta, como las hojas, tallos, raíces e incluso en sus secreciones, constituyen un arsenal químico que les permite enfrentar patógenos de forma activa (Burbano, 2020).

Estos compuestos antifúngicos, también conocidos como fitoalexinas, son metabolitos secundarios que se desencadenan como respuesta a la presencia de patógenos invasores. Su función principal es inhibir el crecimiento y desarrollo de hongos y otros agentes patógenos, protegiendo así a la planta de posibles infecciones (Pietrobelli *et al.*, 2020).

La diversidad de estos compuestos es sorprendente: desde alcaloides hasta terpenoides, flavonoides y polifenoles, cada uno con propiedades específicas que atacan distintas fases del ciclo de vida de los hongos. Algunos interrumpen su reproducción, otros afectan su estructura celular o su capacidad para desarrollar micelios, contribuyendo en conjunto a una respuesta defensiva efectiva (Simonetti *et al.*, 2020; Gómez *et al.*, 2020). Además, estas sustancias antifúngicas no solo actúan como una defensa directa contra patógenos, sino que también desempeñan un papel crucial en la resistencia de las plantas a enfermedades, fortaleciendo su sistema inmunológico (Brindha *et al.*, 2021).

La *Rottboellia cochinchinensis* conocido inicialmente como caminadora, es una gramínea anual de autopolinización, está ampliamente distribuida en América latina se encuentran en los cultivos de arroz, algodón, maíz, sorgo y caña de azúcar, así como en potreros y plantaciones tropicales mangos, cítricos y papaya (Carpio *et al.*, 2020).

Debido a su convivencia con los cultivos, la caminadora ha coevolucionado para su supervivencia, desarrollando aleloquímicos que inhiben el desarrollo de otras especies, esta característica inhibitoria ejercida por una especie sobre otra se conoce como alelopatía (Blanco, 2006).

Se ha confirmado la capacidad alelopática de la caminadora para afectar plantas de diversas especies. La consideración de los efectos alopáticos de esta planta constituye una estrategia interesante en el manejo integrado de malezas (Soriano, 2017). La utilización de los mecanismos fitofungicidas de la caminadora permite aprovechar sus propios mecanismos desarrollados para obtener ventaja sobre otras especies vegetales (Cabeza, 2021).

El presente estudio se enfocó en la validación *in vitro* de extractos vegetales de *R. cochinchinensis* (Lour) WD, específicamente para el control de dos hongos fitopatógenos de importancia económica: *M. roleri*, causante de la moniliasis del cacao, y *L. theobromae*. El uso de fungicidas químicos ha sido la estrategia tradicional para controlar estas enfermedades, pero su uso excesivo puede tener impactos negativos en el medio ambiente y la salud humana. Por lo tanto, existe un creciente interés en encontrar alternativas más sostenibles, como el uso de extractos vegetales con propiedades fungicidas.

Los resultados obtenidos a partir de esta investigación pueden contribuir al desarrollo de estrategias de manejo integrado de enfermedades en la agricultura, al proporcionar una alternativa natural y sostenible al uso de fungicidas químicos. Además, podrán sentar las bases para futuros estudios encaminados a la identificación.

CAPÍTULO I
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problema de investigación

1.1.1. Planteamiento del problema

Para el control de estos hongos el uso de fungicidas químicos ha sido una estrategia comúnmente empleada para el control de patógenos en los cultivos agrícolas, incluyendo *Moniliophthora roreri* y *Lasiodiplodia theobromae*. Estos productos químicos están diseñados para eliminar o suprimir el crecimiento de los hongos y reducir la incidencia de las enfermedades en los cultivos. Sin embargo, su uso no está exento de consecuencias que deben ser consideradas.

Uno de los aspectos importantes a considerar son los riesgos para la salud humana. Los fungicidas químicos pueden contener compuestos tóxicos que pueden representar un peligro para los trabajadores agrícolas y los consumidores si no se utilizan correctamente o si no se siguen las prácticas adecuadas de seguridad y manejo.

Diagnóstico

EL control actual de estos hongos se realiza mediante el uso indiscriminado de fungicidas químicos los cuales tiene impactos negativos como en el medio ambiente. Estos productos pueden persistir en el suelo, el agua y los tejidos de las plantas, lo que puede afectar la calidad del agua y la biodiversidad de los ecosistemas. Además, algunos fungicidas pueden tener efectos adversos en organismos no objetivo, como insectos beneficiosos, abejas y otros polinizadores, lo que puede afectar negativamente la salud de los ecosistemas agrícolas y la biodiversidad en general.

Pronóstico

Se propone la elaboración e implementación de un extracto vegetal proveniente de la *Rottboellia cochinchinens*. Esta iniciativa surge debido a la observación de que ciertos extractos vegetales pueden poseer propiedades antifúngicas, brindando alternativas sostenibles para el control de patógenos en la agricultura. Se ha identificado que este extracto contiene compuestos bioactivos con potencial actividad antifúngica.

La solución a este problema podría ofrecer una alternativa prometedora y ecológica para el control de *Moniliophthora roreri* y *Lasiodiplodia theobromae*, contribuyendo así a la protección de los cultivos agrícolas y la seguridad alimentaria. Además, este estudio podría proporcionar conocimientos adicionales sobre los compuestos bioactivos presentes en *R. cochinchinensis*.

1.1.2. Formulación del problema

¿Cuál es el efecto de los extractos vegetales *in vitro* de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour) W.D. como Fito fungicida agrícola?

1.1.3. Sistematización del problema

¿Por qué establecer un método rentable de extractos vegetales de actividad fúngica?

¿Por qué determinar los metabolitos secundarios presentes en los extractos de estudio?

¿Para qué evaluar la actividad antagónica de los extractos vegetales sobre la inhibición micelial de hongos fitopatógenos?

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Analizar los extractos vegetales in vitro de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour)W.D. de actividad Fito fungicida agrícola.

1.2.2. Objetivos específicos

- Establecer la metodología apropiada para la extracción de extractos vegetales con actividad fúngica.
- Determinar los metabolitos secundarios presentes en los extractos de estudio.
- Evaluar la actividad antagónica de los extractos vegetales sobre la inhibición micelial de hongos fitopatógenos.

1.3. Justificación

La *Moniliophthora roreri* y *Lasiodiplodia theobromae* son dos fitopatógenos de importancia agrícola que afectan cultivos de alto valor económico, como el cacao y otras plantas frutales. Estos pueden causar pérdidas significativas en la producción agrícola, lo que afecta directamente la economía de los agricultores y la seguridad alimentaria en las regiones afectadas.

Los fungicidas químicos pueden tener efectos negativos en el medio ambiente y en la salud humana si no se utilizan de manera adecuada, el uso indiscriminado de químicos ha llevado al desarrollo de resistencia en muchos patógenos, lo que ha disminuido la eficacia de estos productos y ha aumentado los costos de producción. La validación de extractos vegetales como Fito fungicidas ofrece una opción más sostenible y respetuosa con el medio ambiente, ya que los compuestos naturales presentes en las plantas pueden tener propiedades antifúngicas efectivas sin los efectos secundarios negativos de los químicos sintéticos.

La *R cochinchinensis* es una planta poco estudiada en términos de sus propiedades antifúngicas debido a que es considerada una maleza la cual es perjudicial para los cultivos agrícolas, sin embargo, esta tesis enfocada en la validación in vitro de sus extractos vegetales como fitofungicida abriría nuevas oportunidades de investigación y podrá proporcionar conocimientos valiosos sobre las propiedades bioactivas de esta planta en particular.

Posible impacto económico: Si los resultados de la tesis demuestran la efectividad de los extractos vegetales de *R cochinchinensis* como fitofungicidas contra los patógenos mencionados, esto podría tener un impacto positivo en la industria agrícola. Los agricultores podrían beneficiarse de una alternativa más económica y sostenible para el control de enfermedades, esto podría contribuir a proteger los cultivos y mantener una producción agrícola más estable.

El objetivo de esta investigación es la validación in vitro de extractos vegetales de *R. cochinchinensis* como fitofungicida agrícola contra la *M. roreri* y *L. theobromae* es relevante debido a su potencial impacto en la agricultura, su enfoque en soluciones sostenibles y su contribución a la fitomedicina, lo que podría beneficiar tanto a los agricultores como a la seguridad alimentaria.

CAPÍTULO II
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco conceptual

2.1.1. Extractos vegetales

Los extractos vegetales son preparaciones líquidas o semilíquidas que se obtienen a partir de partes de plantas, como hojas, tallos, raíces, flores, frutos o semillas. Estos extractos contienen una concentración de compuestos bioactivos presentes en la planta original. Se utilizan en diversas aplicaciones, como la medicina, la industria alimentaria, la cosmética y la agricultura, debido a sus propiedades beneficiosas (Celis *et al.*, 2008).

2.1.2. Caminadora

Rottboellia cochinchinensis que a veces se llama "caminadora" o "pata de gallina" debido a la forma de sus inflorescencias que se asemejan a las patas de una gallina, es una maleza invasora que puede ser perjudicial para los cultivos y pastizales en algunas regiones (Esqueda, 2005).

2.1.3. Fungicida

Un fungicida es un tipo de pesticida o agente químico utilizado en la agricultura y la horticultura para controlar, prevenir o eliminar las infecciones por hongos en plantas y cultivos (Celis *et al.*, 2008).

2.1.4. Fito fungicida

Un fitofungicida es un tipo de pesticida o agente químico diseñado específicamente para prevenir, controlar o eliminar las infecciones por hongos en plantas y cultivos. A diferencia de los fungicidas convencionales, que son productos químicos sintéticos, los fitofungicidas se derivan de fuentes naturales, como plantas, microorganismos beneficiosos u otras sustancias naturales, y son utilizados en la agricultura y la horticultura para proteger las plantas de enfermedades fúngicas (Luján *et al.*, 2010).

2.1.5. Maceración

La maceración es un proceso de extracción utilizado para obtener compuestos solubles en un líquido, generalmente utilizando la inmersión de una sustancia sólida en ese líquido. Este método se utiliza ampliamente en diversas aplicaciones, como la preparación de extractos vegetales, la fabricación de bebidas alcohólicas, la producción de perfumes y la elaboración de alimentos, entre otros (Montoya *et al.*, 2003).

2.2. Marco referencial

2.2.1. *Rottboellia cochinchinensis*

Rottboellia cochinchinensis, es una especie de hierba nativa de Ecuador y de otras regiones. Se trata de una planta invasiva altamente problemática debido a su crecimiento agresivo y su capacidad para desplazar la vegetación nativa y los cultivos (Esqueda, 2005).

2.2.1.1. Clasificación taxonómica

- Reino: Plantae
- Filo: Magnoliofita
- Clase: Angiospermas
- Categoría: Commelínidos
- Orden: Poales
- Familia: Poáceas
- Subfamilia: Panicoideae
- Género: *Rottboellia*
- Especie: *Rottboellia cochinchinensis* (EPPO, 2001)

2.2.1.2. Hábitat

Esta planta puede colonizar campos agrícolas, terrenos baldíos, áreas perturbadas, pastizales, zonas ribereñas y áreas forestales. Además, se encuentra en entornos urbanos y suburbanos, así como en hábitats naturales. Su adaptabilidad y crecimiento agresivo la convierten en una

amenaza para la agricultura y los ecosistemas locales, lo que requiere esfuerzos de control y gestión en muchas regiones afectadas (Anzalone *et al.*, 2006).

2.2.1.3. Distribución

Se extiende a través de medios naturales, como el viento y el agua que dispersan sus semillas, así como por actividades humanas, como el comercio de cultivos y la contaminación de equipos agrícolas. Como resultado se encuentra en varias partes del mundo, abarcando desde Asia, su lugar de origen, hasta África, América y Australia, donde se ha convertido en una problemática especie invasiva en campos agrícolas y áreas naturales (Meksawat y Pornprom, 2010).

2.2.1.4. Distribución altitudinal

Esta especie de hierba prefiere hábitats de altitudes bajas, típicamente por debajo de los 1,000 metros sobre el nivel del mar, en algunas áreas de climas subtropicales, puede encontrarse en altitudes un poco más elevadas. Por lo tanto, su distribución altitudinal se encuentra principalmente en las tierras bajas y las regiones costeras de las áreas tropicales y subtropicales en todo el mundo (Delgado *et al.*, 2006).

2.2.1.5. Influencia del ser humano sobre su distribución local o regional

La expansión a regiones fuera de su distribución nativa se ha facilitado a través del transporte humano y el comercio internacional de cultivos, semillas logrando adherirse a maquinaria agrícola y vehículos, lo que permite su propagación a nuevas áreas. La actividad humana, como la deforestación y la expansión de la agricultura, a menudo crea condiciones favorables para su crecimiento (Silva *et al.*, 2009).

En algunas ocasiones, ha sido introducido intencionalmente en regiones como forraje para el ganado o para la estabilización del suelo en áreas degradadas. Sin embargo, estas introducciones a menudo han tenido consecuencias no deseadas, ya que la planta se convierte en una especie invasiva. (Silva *et al.*, 2009).

2.2.1.6. Descripción morfológica

Rottboellia cochinchinensis presenta una serie de características morfológicas distintivas que ayudan a identificarla. Es una hierba perenne que puede crecer hasta alturas de 1 a 2 metros (3 a 6.6 pies). Las hojas son largas, lanceoladas y afiladas en los bordes. Tienen un color verde oscuro y una textura rugosa (Delgado *et al.*, 2008).

Produce inflorescencias en forma de panículas con una estructura alargada y ramificada en la parte superior del tallo. Las flores son pequeñas y generalmente de color amarillo o marrón claro. Son de forma simple y no muy llamativas. Los tallos son robustos y generalmente erguidos. Pueden ser leñosos en la base y más delgados hacia la parte superior. El sistema de raíces es fibroso y se extiende en el suelo, lo que le permite propagarse y colonizar áreas fácilmente (Delgado *et al.*, 2008).

Produce semillas pequeñas, generalmente de forma ovalada y color marrón claro. Estas semillas son dispersadas por el viento, el agua y los animales. Uno de los rasgos más distintivos del pasto comején son los pequeños pelos o espinas en los tallos y las hojas (Delgado *et al.*, 2008).

2.2.1.7. Ecología

Resistente a condiciones de sequía y puede sobrevivir en áreas con estrés hídrico. Esto le permite colonizar áreas donde otras plantas pueden tener dificultades para prosperar. La planta se reproduce tanto por semillas como vegetativamente a través de brotes o tallos. Sus semillas son dispersadas por el viento, el agua y animales, lo que facilita su propagación a nuevas áreas (Esqueda, 2005).

En campos agrícolas, puede reducir significativamente los rendimientos de los cultivos y aumentar los costos de control de malezas, lo que tiene un impacto económico negativo. La invasión también puede afectar a la fauna, ya que puede alterar los hábitats y disminuir la disponibilidad de alimentos y refugio para la vida silvestre. El control puede ser difícil debido a su capacidad de propagación y resistencia a herbicidas (Esqueda, 2005).

2.2.1.8. Capacidad alelopática de la caminadora *Rottboellia cochinchinensis*.

Se ha asociado con la capacidad alelopática en algunos estudios científicos, se ha observado que produce compuestos químicos que pueden inhibir el crecimiento de otras plantas y competir por recursos; la investigación sobre la alelopatía de esta especie puede proporcionar información valiosa para desarrollar estrategias de control y manejo, especialmente en áreas donde es una planta invasiva problemática (Anzalone *et al.*, 2006).

Los compuestos alelopáticos liberados pueden afectar plantas cercanas reduciendo su capacidad para germinar, crecer o desarrollarse adecuadamente; la alelopatía puede variar según las condiciones ambientales y la genética de las poblaciones (Anzalone *et al.*, 2006).

2.2.1.9. Importancia de la caminadora en la agricultura

Sirve como refugio y hospedaje para plagas y enfermedades que pueden afectar a los cultivos, lo que aumenta el riesgo de brotes de enfermedades y pestes en la agricultura. Su impacto puede desplazar la vegetación nativa en ecosistemas naturales, lo que afecta la biodiversidad y la salud de estos ecosistemas. La presencia de caminadora en los campos agrícolas puede resultar en pérdidas económicas significativas para los agricultores, lo que reduce su rentabilidad y estabilidad financiera (Meksawat y Pornprom, 2010).

2.2.2. Hongos fitopatógenos

Los hongos fitopatógenos son organismos fúngicos que causan enfermedades en plantas, lo que puede resultar en daños significativos en la agricultura, la silvicultura y la horticultura. Estos hongos pueden infectar diferentes partes de las plantas, como las hojas, tallos, raíces, flores o frutos, y pueden causar síntomas variados, como manchas, deformaciones, marchitez y muerte de la planta (Castaño, 2015).

2.2.2.1. Características generales de los hongos

Los hongos son organismos eucariotas heterótrofos, es decir obtienen su nutrición absorbiendo sustancias orgánicas, como nutrientes disueltos o materia orgánica en descomposición del entorno lo que hace que se diferencien de las plantas porque realizan la

fotosíntesis para producir su propio alimento, los hongos son heterótrofos. Esto significa que (Infante *et al.*, 2009).

Tienen una pared celular compuesta de quitina, un polisacárido resistente que les proporciona estructura y soporte, pueden reproducirse de manera asexual mediante la formación de esporas o fragmentación, así como de manera sexual mediante la fusión de células sexuales especializadas llamadas gametos (Infante *et al.*, 2009).

Algunos hongos forman simbiosis beneficiosas con otros organismos, como las micorrizas, que ayudan a las plantas a absorber nutrientes del suelo, o las asociaciones con líquenes, donde se asocian con algas para formar estructuras resistentes. Los hongos tienen una gran importancia económica en la producción de alimentos, bebidas y productos químicos, así como en la investigación científica. (Montes, 2009).

2.2.2.2. Morfología

El cuerpo principal de un hongo se llama micelio, es la parte vegetativa del hongo y está oculto bajo la superficie en la mayoría de las especies. Las hifas son los filamentos tubulares que componen el micelio. Pueden ser septadas, con tabiques que dividen las hifas en compartimentos, o no septadas, lo que significa que son continuas (Trigos *et al.*, 2008).

En muchas especies de hongos, el cuerpo reproductivo es visible y se llama cuerpo fructífero que es la parte del hongo que produce esporas y que es reconocible a simple vista. Las esporas son las estructuras reproductivas de los hongos. Vienen en una variedad de formas y tamaños, y pueden ser producidas en grandes cantidades. Las esporas son liberadas por el cuerpo fructífero para propagar el hongo y pueden ser transportadas por el viento, el agua, los animales o incluso insectos (Trigos *et al.*, 2008).

La morfología externa del cuerpo fructífero puede variar en color, textura y forma. algunas setas pueden ser grandes y carnudas con sombreros de colores brillantes, mientras que otros pueden tener una apariencia más pequeña y delicada (Trigos *et al.*, 2008). La morfología de los hongos también puede estar relacionada con su hábitat y sustrato (Rodríguez *et al.*, 2000).

2.2.2.3. Reproducción de los hongos

Los hongos pueden reproducirse de varias maneras, y su ciclo de vida puede incluir tanto reproducción sexual como asexual. La reproducción asexual puede ocurrir por división binaria, donde una célula madre se divide en dos células hijas idénticas; por gemación, donde una célula madre produce una protuberancia o yema que eventualmente se separa para formar una nueva célula hija (Castaño, 2015).

Algunos hongos multicelulares pueden reproducirse por fragmentación, donde la esporulación asexual es un método común de reproducción en los hongos produciendo esporas asexuales en estructuras llamadas conidiósporas o esporangios que son liberadas y dispersadas en el ambiente para formar nuevos micelios cuando encuentran condiciones adecuadas (Castaño, 2015).

En el proceso de reproducción sexual de los hongos, dos hifas de diferentes tipos se encuentran y fusionan sus citoplasmas en un proceso llamado plasmogamia, la fusión de los núcleos de las células se llama cariogamia. Este evento marca la etapa final de la reproducción sexual y forma una célula diploide llamada cigoto ahí se realiza la meiosis para formar esporas haploides que son liberadas y pueden desarrollarse en nuevos micelios (Infante *et al.*, 2009).

2.2.2.4. Ecología de los hongos.

La ecología y la diseminación de los hongos son procesos fundamentales que influyen en la distribución y la función de estos organismos en los ecosistemas, desempeñan un papel fundamental en la descomposición de materia orgánica en los ecosistemas y son responsables de descomponer restos orgánicos para liberar nutrientes esenciales en el proceso (Montes, 2009).

Muchos hongos forman relaciones simbióticas beneficiosas con otros organismos. Las micorrizas crean asociaciones entre hongos y las raíces de las plantas que mejoran la absorción de nutrientes por parte de las plantas. Los hongos pueden competir con otros organismos, incluyendo plantas, por recursos como nutrientes y agua. Algunos hongos son

patógenos de plantas y pueden causar enfermedades que afectan la salud de los cultivos (Montes, 2009).

2.2.2.5. Diseminación de los hongos

La mayoría de los hongos se reproducen mediante la producción y liberación de esporas. Estas esporas pueden ser transportadas por el viento, el agua, los animales, insectos u otros vectores. Muchas esporas fúngicas son pequeñas y ligeras, lo que les permite ser transportadas por el viento a largas distancias. Esto facilita su dispersión y colonización de nuevos hábitats (Trigos *et al.*, 2008).

En ambientes acuáticos, las esporas pueden ser transportadas por el agua como los hongos acuáticos. La actividad humana, como el transporte de madera, suelos contaminados o productos agrícolas, también puede contribuir a la dispersión de hongos, incluyendo patógenos que afectan a cultivos (Trigos *et al.*, 2008).

2.2.3. *Moniliophthora roreri*

Hongo fitopatógeno que causa una enfermedad conocida como la "Moniliasis del cacao" o "Moniliasis del cacao fino de aroma" que es una enfermedad que afecta al cacao, la planta de la cual se obtiene el grano de cacao utilizado para producir chocolate y otros productos relacionados (Tirado *et al.*, 2016).

Produce síntomas característicos en el cacao, que incluyen la pudrición de los frutos (mazorcas), especialmente cuando están maduros. Los granos de cacao dentro de las mazorcas afectadas se vuelven negros y pegajosos debido a la actividad del hongo, lo que reduce la calidad y la cantidad de la cosecha. Además, las flores y los brotes de la planta también pueden infectarse (Tirado *et al.*, 2016).

La diseminación de *M. roreri* generalmente ocurre a través de la dispersión de esporas, que pueden ser transportadas por el viento y el agua. También puede propagarse mediante el contacto directo con material vegetativo infectado, como mazorcas o brotes, y por el uso de herramientas agrícolas contaminadas (Tirado *et al.*, 2016).

La Moniliasis del cacao puede tener un impacto económico significativo en la industria del cacao. Los agricultores pueden experimentar pérdidas importantes en la producción y calidad de los granos de cacao, lo que afecta la rentabilidad y la sostenibilidad de los cultivos de cacao en las regiones afectadas (Suárez y Rangel, 2013).

El control de *M. royeri* puede ser un desafío. Se utilizan diversas estrategias para el manejo de la enfermedad, que incluyen prácticas culturales como la poda de ramas infectadas, el uso de fungicidas, y la selección de variedades de cacao resistentes. Además, la investigación genética para desarrollar variedades de cacao más resistentes a la enfermedad es un área activa de investigación (Suárez y Rangel, 2013).

2.2.3.1. Síntomas

Los síntomas pueden variar en su manifestación y severidad, uno de los síntomas más característicos es la pudrición de los frutos de cacao, comenzando como pequeñas lesiones de color marrón o negras en la superficie de la mazorca. A medida que la infección avanza, estas lesiones se agrandan y se tornan negras y pegajosas. Los granos de cacao dentro de las mazorcas infectadas también se vuelven oscuros y pegajosos (Pérez, 2018).

Además de los frutos, también puede infectar flores y brotes de cacao provocando la muerte de estas estructuras antes de que puedan desarrollarse completamente, la infección reduce significativamente la producción de cacao y la calidad de los granos. A medida que los frutos infectados se descomponen, el hongo produce esporas que pueden ser liberadas al ambiente, contribuyendo a la diseminación de la enfermedad a otras plantas de cacao cercanas (Pérez, 2018).

2.2.3.2. Ciclo de vida

El ciclo de vida consiste de varias etapas que están relacionadas con la infección de las plantas y la producción de esporas para su diseminación. Comienza con la producción de esporas llamadas "basidiosporas" que son las estructuras reproductivas del hongo (Correa *et al.*, 2014).

Las basidiosporas son liberadas al ambiente desde los basidiocarpos del hongo (transportadas por el viento, el agua, los insectos u otros vectores). Cuando las basidiosporas llegan a las plantas comienzan a infectar diversas partes de la planta, incluyendo frutos (mazorcas), flores y brotes, penetra en los tejidos de la planta y comienza a crecer y propagarse internamente (Correa *et al.*, 2014).

En la planta infectada, *M. royeri* forma estructuras reproductivas especializadas llamadas "peritecios" que contienen ascos (estructuras reproductivas adicionales) y producen esporas sexuales llamadas "ascosporas (Correa *et al.*, 2014).

Dentro de los peritecios, ocurre la reproducción sexual cuando las ascosporas se forman y maduran. Las ascosporas son liberadas al ambiente desde los peritecios pueden germinar y dar lugar a la formación de nuevas estructuras micelares que infectan otras plantas de cacao cercanas. Este proceso completa el ciclo de vida del hongo (Tirado *et al.*, 2016).

2.2.4. Lasiodiplodia theobromae

Hongo fitopatógeno que pertenece al género *Lasiodiplodia* conocido por causar la enfermedad de "Pudrición de raíces y cuello" en diversas plantas, es un hongo que pertenece a la clase Sordariomycetes y a la familia Botryosphaeriaceae (Picos *et al.*, 2015).

Los síntomas de la infección pueden variar según la planta huésped, pero generalmente incluyen la pudrición de las raíces, la necrosis de tejidos en el cuello de la planta, la formación de cankers (úlceras) en tallos y la reducción del crecimiento y la producción de la planta. También puede provocar la muerte de la planta si la infección es severa (Picos *et al.*, 2015).

Las esporas de *L. theobromae* son liberadas al ambiente desde las estructuras reproductivas del hongo y pueden ser transportadas por el viento, el agua, insectos u otros vectores. También puede diseminarse mediante material vegetativo contaminado, como herramientas agrícolas o maquinaria (Picos *et al.*, 2015).

Este hongo patógeno tiene una amplia gama de hospederos, lo que significa que puede infectar una variedad de plantas, desde árboles frutales y cultivos agrícolas hasta plantas

ornamentales. Algunos de los cultivos afectados incluyen el cacao, el café, los cítricos, el aguacate y muchas otras especies vegetales (Alama *et al.*, 2006).

2.2.4.1. Síntomas

Los síntomas de una infección causada por *Lasiodiplodia theobromae* pueden variar según la planta huésped y las condiciones específicas, uno de los síntomas más comunes es la pudrición de las raíces que pueden volverse marrones o negras, y su textura se vuelve blanda y descompuesta conduciendo a un sistema radicular debilitado y menos eficiente en la absorción de nutrientes y agua (Salvatore *et al.*, 2020).

Las infecciones por *L. theobromae* pueden provocar la necrosis (muerte) de tejidos en el cuello de la planta, en la base del tallo y en otras partes; esta necrosis se manifiesta como áreas oscuras, secas y dañadas. En algunos casos, puede causar la formación de cankers, que son úlceras o lesiones en los tallos. Estas áreas afectadas suelen ser de color oscuro y pueden exudar savia o líquido (Salvatore *et al.*, 2020).

Las plantas infectadas a menudo experimentan marchitez y un crecimiento deficiente. Si la infección es severa y no se controla adecuadamente, puede provocar la muerte de la planta huésped (Salvatore *et al.*, 2020).

2.2.4.2. Ciclo de vida

El ciclo de vida de *Lasiodiplodia theobromae*, comienza con la producción de esporas del hongo que son las estructuras reproductivas que producen esporas de dos tipos: conidiosporas (esporas asexuales) y esporas sexuales (Moreira *et al.*, 2021).

Las conidiosporas son liberadas al ambiente desde las estructuras reproductivas del hongo o desde las lesiones de plantas infectadas, pueden ser transportadas por el viento, el agua, insectos u otros vectores, lo que facilita la diseminación del hongo a otras plantas. Cuando llegan a una planta huésped, pueden infectar diversas partes de la planta, como las raíces, el cuello del tallo o los tejidos cercanos. El hongo penetra en los tejidos de la planta y comienza a crecer y propagarse internamente (Moreira *et al.*, 2021).

En el huésped infectado, *L. theobromae* puede formar estructuras reproductivas especializadas llamadas peritecios que contienen esporas sexuales conocidas como ascósporas. Dentro de los peritecios, ocurre la reproducción sexual cuando las ascósporas se forman y maduran. Las ascósporas son liberadas al ambiente desde los peritecios (Saha *et al.*, 2012).

Las ascósporas pueden germinar en condiciones adecuadas y dar lugar a la formación de nuevos micelios y conidiosporas asexuales. Estos conidios se producen en gran cantidad y contribuyen a la propagación del hongo a otras plantas huéspedes. Este ciclo de vida se repite continuamente, lo que permite que *L. theobromae* se disemine y cause infecciones en nuevas plantas (Saha *et al.*, 2012).

2.2.5. Extractos vegetales

Los extractos vegetales son productos obtenidos a partir de plantas que contienen una concentración de compuestos bioactivos, como polifenoles, flavonoides, terpenoides, alcaloides y otros, que se extraen de las partes de la planta, como las hojas, tallos, raíces, flores, frutos o semillas, pueden tener propiedades medicinales, antioxidantes, antimicrobianas, nutricionales o funcionales, y se utilizan en una variedad de aplicaciones en la industria alimentaria, cosmética, farmacéutica, agrícola y más (Celis *et al.*, 2008).

La composición química de los extractos vegetales varía según la planta de origen y la parte de la planta utilizada. Pueden contener una amplia gama de compuestos, como polifenoles, taninos, aceites esenciales, alcaloides, vitaminas y minerales, entre otros (Celis *et al.*, 2008).

2.2.5.1. Tipos de extractos vegetales

Los extractos vegetales se pueden agrupar en función de varios criterios, como la parte de la planta de la que se obtienen, sus propiedades y aplicaciones (Luján *et al.*, 2010).

Por la parte de la planta:

- **Extractos de hojas:** Se obtienen de las hojas de diversas plantas y pueden utilizarse en la industria alimentaria, cosmética y fitoterapia.

- **Extractos de raíces:** Provenientes de las raíces de plantas, se utilizan en productos medicinales y suplementos nutricionales.
- **Extractos de flores:** Se obtienen de las flores y se utilizan en la perfumería, la industria cosmética y en la preparación de infusiones.
- **Extractos de frutos:** Procedentes de los frutos o semillas de plantas, se utilizan en la industria alimentaria y en la extracción de aceites esenciales.
- **Extractos de corteza:** Se obtienen de la corteza de árboles y arbustos, y se utilizan en la fabricación de tintes, medicamentos y productos a base de hierbas (Luján *et al.*, 2010).

Por propiedades y aplicaciones:

- **Extractos antioxidantes:** Contienen compuestos que combaten los radicales libres y se utilizan en suplementos dietéticos y productos antienvjecimiento.
- **Extractos antimicrobianos:** Tienen propiedades para inhibir el crecimiento de microorganismos y se utilizan en la conservación de alimentos y productos de cuidado personal.
- **Extractos antiinflamatorios:** Contienen compuestos que reducen la inflamación y se utilizan en productos farmacéuticos y cosméticos para la piel sensible.
- **Extractos digestivos:** Se utilizan para promover la salud digestiva y aliviar trastornos gastrointestinales.
- **Extractos energizantes:** Contienen compuestos estimulantes y se utilizan en suplementos y bebidas energéticas (Celis *et al.*, 2009).

Por tipo de compuestos principales:

- **Extractos de polifenoles:** Contienen polifenoles, compuestos antioxidantes que se encuentran en muchas plantas, como el té verde y el vino tinto.
- **Extractos de alcaloides:** Contienen alcaloides, compuestos orgánicos nitrogenados que pueden tener propiedades estimulantes o medicinales.
- **Extractos de aceites esenciales:** Contienen los aceites volátiles aromáticos de las plantas y se utilizan en la aromaterapia y la fabricación de perfumes.
- **Extractos de taninos:** Contienen taninos, compuestos que pueden tener propiedades astringentes y antioxidantes, y se utilizan en productos farmacéuticos y en la industria del vino (Lauzardo *et al.*, 2007).

2.2.5.2. *Métodos de extracción y caracterización de extractos vegetales.*

Los métodos de extracción y caracterización de extractos vegetales son fundamentales para obtener compuestos bioactivos de plantas y para comprender su composición química y propiedades (Celis *et al.*, 2008).

a. **Métodos de extracción de extractos vegetales:**

- **Maceración:** Consiste en sumergir las partes de la planta en un solvente, como alcohol o agua, durante un período de tiempo para permitir que los compuestos se disuelvan. Luego, el líquido se filtra y se concentra para obtener el extracto.
- **Infusión:** Similar a la maceración, pero se utiliza principalmente para obtener compuestos solubles en agua, como los que se encuentran en las hojas y las flores. Se vierte agua caliente sobre las partes de la planta y se deja reposar antes de filtrar el líquido.
- **Destilación:** Este método se utiliza para extraer aceites esenciales de plantas. Implica la evaporación de los compuestos volátiles de las plantas mediante vapor de agua, seguido de su condensación para recoger el aceite esencial.

- **Extracción con solventes orgánicos:** Se utilizan solventes orgánicos, como etanol o hexano, para extraer compuestos lipofílicos de las plantas. El extracto se obtiene evaporando el solvente (Celis *et al.*, 2008).

b. Métodos de caracterización de extractos vegetales:

- **Cromatografía:** La cromatografía en sus diversas formas, como la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) y la cromatografía de gases (GC), se utiliza para separar y cuantificar los compuestos presentes en los extractos vegetales.
- **Espectroscopía:** La espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) y la espectroscopía infrarroja (IR) son técnicas que permiten identificar compuestos químicos y determinar su estructura.
- **Espectrometría de masas:** La espectrometría de masas se utiliza para analizar la masa molecular de los compuestos presentes en los extractos, lo que ayuda en la identificación y cuantificación precisa.
- **Análisis de contenido fitoquímico:** Esto incluye la determinación de contenido de compuestos específicos, como polifenoles, flavonoides, alcaloides y otros metabolitos secundarios presentes en los extractos.
- **Pruebas de actividad biológica:** Se realizan ensayos biológicos para evaluar la actividad antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatoria u otras propiedades biológicas de los extractos vegetales.
- **Microscopía:** La microscopía permite observar la morfología y la estructura de las células vegetales en los extractos, lo que puede ser relevante para la identificación y caracterización.
- **Análisis sensorial:** En la industria alimentaria, se pueden realizar pruebas sensoriales para evaluar el sabor, el aroma y la textura de productos que contienen extractos vegetales (Luján *et al.*, 2010).

2.2.6. Metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios son compuestos químicos producidos por organismos vivos, como plantas, animales, bacterias y hongos, que no están directamente involucrados en las funciones metabólicas esenciales para el crecimiento, desarrollo y reproducción del

organismo. Aunque no son necesarios para la supervivencia inmediata del organismo, desempeñan un papel importante en la adaptación y en la interacción con el entorno.

a. Los metabolitos secundarios se pueden clasificar en varios grupos, que incluyen:

- **Alcaloides:** Compuestos nitrogenados que a menudo tienen propiedades farmacológicas o tóxicas. Ejemplos incluyen la cafeína, la morfina y la quinina.
- **Terpenoides:** Compuestos basados en unidades de isopreno que incluyen aceites esenciales, esteroides y carotenoides.
- **Fenoles:** Compuestos que contienen grupos fenólicos y que tienen propiedades antioxidantes. Ejemplos incluyen el resveratrol y el ácido tánico.
- **Glicósidos:** Compuestos que contienen azúcares unidos a otras moléculas y que pueden tener propiedades medicinales o saborizantes.
- **Glucosinolatos:** Compuestos sulfurados que se encuentran en plantas crucíferas y que tienen propiedades antinutricionales o defensivas contra herbívoros.
- **Saponinas:** Compuestos que pueden formar espuma en agua y que se utilizan en la fabricación de jabones y detergentes (Montoya *et al.*, 2003).

b. Los metabolitos secundarios desempeñan diversas funciones en los organismos, que incluyen:

- **Defensa:** Algunos metabolitos secundarios actúan como defensas químicas contra herbívoros y patógenos.
- **Atracción y repulsión:** Algunos son responsables de atraer a polinizadores o dispersores de semillas, mientras que otros pueden repeler a insectos y animales no deseados.

- **Regulación del crecimiento y desarrollo:** Pueden tener un papel en la regulación del crecimiento y el desarrollo de los organismos (Montoya *et al.*, 2003).

2.2.7. Revisión histórica del tema en estudio

En la investigación de (Caicedo Escudero, 2015) con el objetivo de evaluar el efecto de los fungicidas orgánicos Sonata, Serenade, Max-Fun, para el control de la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella finjiensis*) en el cultivo de banano (*Mussa AAA*). Los tratamientos en estudio estuvieron constituidos por el testigo absoluto T1, el fungicida Max-Fun T2 en dosis de 2 l/ha, Serenade en la dosis de 2 l/ha y Sonata en la dosis de 2 l/ha. En la variable de residualidad obtuvimos los siguientes resultados a los 49 días: El T1 presentó un promedio de 29.20 a, el T2 presentó un promedio de 65.93 b, El T3 presentó un promedio de 65.60 b, y el T4 presentó un promedio de 75.27 c. En la variable de eficacia: El T1 reportó un promedio de 78.68 c, el T2 reportó un promedio de 37.61 b, el T3 reportó un promedio de 37.49 b, y el T4 reportó un promedio de 32.13 a.

Así mismo (Scribano y Garcete, 2016) analizó la eficacia del uso de fungicidas de síntesis y orgánicos en el control de la pudrición de corona del fruto del banano. Se identificaron fungicidas de síntesis que permiten controlar la pudrición de corona evaluados a los 3, 7 y 9 días después de la aplicación. Los resultados demostraron que con el uso de fungicidas de síntesis se controló la enfermedad con dos de los tratamientos (Azoxystrobín y Tebuconazole + Carbendazím) respecto al testigo. El fungicida orgánico no presentó diferencias significativas respecto al testigo.

Por otro lado (Padilla Morales, 2013) evaluó cuatro fungicidas orgánicos para el control de la roya (*Uromyces spp*) en el cultivo de vainita (*Phaseolus vulgaris L.*), con el propósito de controlar uno de los problemas serios en este tipo de cultivo como es la roya mediante el control con fungicidas orgánicos; se determinó el mejor tratamiento fungicida orgánico en el control de la roya, y se analizó económicamente a cada uno de los tratamientos.

(Sánchez *et al.*, 2021) evaluó la aplicación de fungicidas orgánicos sobre la severidad de Sigatoka negra en el cultivo de banano. Se evaluó la evolución de la enfermedad (% Fumipalma S.A.) hasta 35 días después de la aplicación, área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) en H1 y H2. La evolución de la enfermedad en H1 en SLT, estuvo

entre 16,60-50,00%; la menor la presentó Progranic cinnacar y el testigo con el mayor valor. El índice de severidad (AUDPC) presentó diferencias estadísticas con valores entre 217,4-556,1. El área afectada estuvo entre 27,50-56,25%. El AUDPC presentó diferencias estadísticas significativas, el testigo fue más afectado. La aplicación de fungicidas orgánicos genera control sobre SN, el porcentaje de área afectada y el índice de severidad de la enfermedad en el testigo fue mayor. En H2 la severidad de la enfermedad fue mayor que en H1.

Otros autores como (Carrillo *et al.*, 2022) con el objetivo de determinar la dosis apropiada de un fungicida orgánico para el control de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en banano. Los resultados señalaron al T3 como el mejor, permitiendo a las plantas llegar con un número adecuado de hojas a cosecha. La cosecha se realizó entre enero-abril, momento de mayor presión de la enfermedad en la zona de evaluación, mostrando un buen desempeño del fungicida en el mercado para el control de Sigatoka negra.

Así mismo (Bartra, 2017) con el objetivo de: evaluar la eficacia de tres agentes para el control de *B. cinérea* Pers. en el cultivo de granadilla. Se llegó a las siguientes conclusiones: i) La mayor incidencia del Moho gris causado por *Botrytis cinerea* en el cultivo de granadilla se presenta a los 45 días después de iniciada la cosecha, alcanzando en el testigo un 25.3 %; mientras que en los tratamientos con Caldo bordalés (T1), *Trichoderma* (T2) y fungicida Epoxiconazole + Pyraclostrobin (T3) fueron de 18.3, 11 y 9 % respectivamente; ii) Existen sólo diferencias estadísticas en el control de la incidencia de *Botrytis cinerea* en frutos a los 45 y 60 días de iniciadas las cosechas; siendo, los tratamientos con *Trichoderma* (T2) y fungicida Epoxiconazole + Pyraclostrobin (T3) estadísticamente mejor sólo frente al tratamiento testigo (T4); iii) Aun cuando no existen diferencias estadísticas para los rendimientos de frutos sanos, los tratamientos con el fungicida Epoxiconazole + Pyraclostrobin (T3), *Trichoderma* (T2) y Caldo bordalés (T1) lograron producir 299.7, 299.4 y 177.5 % más frutos sanos que el Testigo (T4); y iv).

(Almagro *et al.*, 2018) con el objetivo de evaluar el comportamiento agronómico del cultivo de arroz ante diferentes dosis de fungicidas químicos y orgánicos, la zona arrocera norte del país. Se obtuvieron los siguientes resultados, al comparar el mejor resultado de cada tratamiento con el testigo: El tratamiento 5 presento mayor número de macollos buenos en comparación al testigo que fue quien obtuvo mayor número de macollos vanos, el cual

coinciden con el alto número de granos vanos. Para la variable de longitud de panícula el tratamiento 2 fue significativamente diferente con una media de 30,77 cm.

Mientras que tratamiento 2 y 3 resultaron iguales en la variable de peso de mil semillas dando como resultado 25g los dos comparado con el testigo. Mientras que el tratamiento 6 (testigo) fue el que más granos vanos presento en comparación con los demás tratamientos estudiados. Al hablar de la incidencia de manchado de grano resalta el tratamiento 3 con la menor presencia de esta enfermedad en comparación al tratamiento testigo. En la variable de rendimiento el tratamiento 1 presento mayor cantidad de kilogramos en comparación al testigo, con una diferencia de 299 kg a favor (Almagro *et al.*, 2018).

De igual manera (González, 2018) con el objetivo de evaluar tres dosis de aplicación (9.5, 19 y 28.5 L/ha) de dos fungicidas orgánicos *Reynoutria sachalinensis* y *Bacillus amyloliquefaciens* en cultivo de plátano. Para las variables número de hojas, diámetro de tallo, incidencia de afecciones foliares y rendimiento (peso de racimo y número de dedos) no hubo efecto de la dosis de aplicación de *Reynoutria sachalinensis* y *Bacillus amyloliquefaciens* a las 35, 39, 43 y 47 semanas después de siembra. Durante el desarrollo del ensayo, se presentaron cambios progresivos del grado de afecciones, con un porcentaje de incidencia máximo de 41%. No es recomendable la aplicación de *Reynoutria sachalinensis* y *Bacillus amyloliquefaciens* en dosis desde 9.5 hasta 28.5 L/ha, posterior a las 35 semanas después de la siembra en producción de plátano.

(Riascos Balarezo, 2016) con el objetivo de evaluar la efectividad de la aplicación de fungicidas orgánicos e inorgánicos basados en el rendimiento y la calidad de la semilla. Se obtuvieron los siguientes resultados: para el porcentaje de granos sanos se obtuvo mayor porcentaje en el tratamiento T1 con 99,26% y el tratamiento T6 el de menor porcentaje con 95,97%; para el porcentaje de granos vanos el que alcanzo el menor porcentaje fue el tratamiento T5 y tratamiento T1 con un 0,33% apreciando que el de mayor porcentaje de granos vanos fue el tratamiento T6 con un 0,74%; para el porcentaje de granos manchados el mejor control se presentó en el tratamiento T1 con un 0,41% mientras que el tratamiento T6 alcanzo un total de 3,29%.

Para las medias de peso de granos sanos pudimos observar que no existe diferencia significativa entre tratamientos; en el peso de granos vanos observamos que el mayor peso

se presentó en el tratamiento T6 con un total de 46,51 kg/ha y el de menos porcentaje el tratamiento T1 con 23,26 kg/ha; en cuanto al peso de granos manchados se observó que el tratamiento T6 alcanzó el mayor peso con 209,3 kg/ha y el de menor peso el tratamiento T1 con 29,07 kg/ha; en la variable rendimiento kg/ha se observó que el mayor rendimiento se alcanzó en el tratamiento T2 con 8622,09 kg/ha seguido por el tratamiento T4 con 8270,35 kg/ha y el menor rendimiento el tratamiento T6 con 6433,14 kg/ha (Riascos Balarezo, 2016)

(Rosado Rivera, 2016) con el objetivo de evaluar fungicidas orgánicos y convencionales *in vitro* e *in vivo* para el manejo de enfermedades foliares en el ñame. Los fungicidas seleccionados para los experimentos *in vitro* e *in vivo* fueron Switch®, Trilogy®, Regalia®, Kphite®, Chlorothalonil®, Fontelis®, Kocide® y Quadris®. Los fungicidas Chlorothalonil®, Fontelis® y Switch® fueron los que mejor inhibieron el crecimiento micelial de *C. gloesporioides* y *C. alatae* en los ensayos colorimétricos *in vitro*. Mientras que Switch® fue el único que fue estadísticamente diferente comparada con el control no tratado en controlar la enfermedad de antracnosis *in vivo*. Ninguno de los tratamientos a base de extracto de plantas (Trilogy® y Regalia®) y los otros fungicidas convencionales fueron significativamente diferente en la reducción de la severidad.

En la evaluación de la sensibilidad, ambos aislados (*C. gloesporioides* y *C. alatae*) crecieron en el medio enmendado con fungicida al igual que el no enmendado. Estos resultados sugieren el desarrollo de resistencia de aislados de *Colletotrichum* expuestos a *azoxystrobin* en la isla (Rosado Rivera, 2016)

(Colque y Iquize, 2020) con el objetivo de realizar el control del hongo (*Leptosphaeria polylepidis*) que en los últimos años van diezmando a la población de Keñuas (*Polylepis tarapacana*) del Parque Nacional Sajama. Los resultados que se obtuvieron arrojan que para el control del hongo (*Leptosphaeria polylepidis*) el fungicida químico Cobrethane, en una triple dosis (2250 g/200 l) y quintuple dosis (3750 g/200 l) de la recomendación comercial, es efectivo para el control en un 100% a los 4 días de la aplicación. Además de que el desarrollo del hongo (*Leptosphaeria polylepidis*) en medio PDC, en principio siempre empieza el desarrollo tomando un color amarillo-veige (10YR 7/6), hasta tornarse café claro (10YR 6/6) y finalmente olivo- amarillo (2.5 y 6/8), formando los anillos concéntricos como característica única del género. Con todo lo anteriormente señalado es necesario realizarla aplicación de los fungicidas en condiciones de campo para comprobar su efectividad.

(Coromoto *et al.*, 2017) con el objetivo de evaluar el efecto que tienen dos fungicidas orgánicos a base de orégano (ganore y fungol) sobre el control del hongo *Colletotrichum gloeosporioides*. Los resultados de un efecto inhibitor de un 100% de los dos fungicidas orgánicos en los diferentes tratamientos empleados con concentraciones de ganore, dosis alta 15 mL, dosis recomendada 10 mL y dosis baja 5 mL y fungol dosis alta 1,5 mL, dosis recomendada 1 mL y dosis baja 0,5 mL; el efecto inhibitor de estos fungicidas orgánicos sobre el hongo in vitro, como en la superficie de los frutos de lechosa aplicados directamente. Se concluye, que los productos a base de orégano pueden ser una alternativa orgánica para el control del hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, de manera natural y eficaz, sin afectar la calidad postcosecha de la lechosa.

(Cascon y Kronfle, 2018) con el objetivo de evaluar el efecto de dos fungicidas orgánicos (*Reynoutria sachalinensis* y M-110) y tres frecuencias de aplicación en la producción de plátano. Para las variables número de hojas, incidencia de enfermedad foliar y rendimiento, no hubo efecto de la frecuencia de aplicación de los biofungicidas (*R. sachalinensis* y M-110) a las 38, 44 y 50 semanas después de siembra. *R. sachalinensis* mostró un control parcial de los tubos germinativos de *M. fijensis*. No es recomendable hacer aplicaciones de los fungicidas orgánicos en las condiciones del experimento a las 38 semanas después de siembra, ya que ningún biofungicida mostró efecto en la producción del plátano.

(Sauhing Aspiazu, 2017) con el objetivo de evaluar fungicidas orgánicos para el manejo del manchado del grano en arroz (*Oryza sativa*) bajo riego en Abras de Mantequilla. El mejor tratamiento en controlar el manchado del grano fue el T7 (Ácido piroleñoso a 0,75 L/ha), con el 7,67 % de granos manchados y una eficacia de control de 51,31 %, el mayor porcentaje de vaneos lo mostró el T3 con 13,67 %, el mayor número de espiga/m² a la cosecha lo consiguió el T2 con 275 espiga/m², en números de granos por espiga, los mayores valores los consiguieron los tratamientos T8-T4-T9 con 129 unidades, el mayor peso de mil granos manchados, estuvo en el T5 con 26,43 gramos, en el rendimiento el mayor valor fue para el T3 con 7 346,67 kg/ha, el análisis económico, demostró que el T1=Testigo, fue el que obtuvo mayor relación B/C con \$ 0,11 dando una rentabilidad de 11 %.

Por último (Vargas Bustos, 2000) con el objetivo de este estudio fue evaluar la efectividad de tres fungicidas de origen orgánico: extracto de semilla de pomelo (BC-1000), pentahidrato sulfato de Cu (Phyton 27) y una levadura (Levadura AH Golondrina), en el

control de pudrición gris, en relación a un fungicida tradicional (Benomilo). En la evaluación *in vitro*, donde se testeó el porcentaje de inhibición de diferentes concentraciones de fungicidas en el crecimiento de micelio de *B. cinerea*, en medio de cultivo PDA, Levadura AH presento la menor ED50 (0,024 g/l) y, por lo tanto, el mejor comportamiento entre los productos orgánicos testeados.

En el ensayo en terreno, en el cual se evaluó el porcentaje de incidencia de la enfermedad en un total de frutos colectados al momento de cosecha, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el control de pudrición gris exógena entre las alternativas orgánicas y el fungicida tradicional Benomilo, aunque BC-1000, en dos de las concentraciones evaluadas (100 y 200 ml/hl), supero al resto de los tratamientos. De acuerdo a estos resultados, los fungicidas orgánicos evaluados constituirían interesantes opciones de control de pudrición gris en este cultivo (Vargas Bustos, 2000)

CAPÍTULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización

El proyecto de investigación se desarrolló en los Laboratorios de Microbiología, Biología y Bioquímica en el Campus Universitario “La María”, perteneciente a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, ubicada en el Km 7.5 vía Quevedo – El Empalme, Provincia de Los Ríos, con coordenadas geográficas de 01° 04′ 49.2″ de latitud Sur y 79° 30′ 05.3″ de longitud Oeste con una altitud elipsoidal de 67 m.s.n.m.

3.2. Tipo de investigación

La investigación que se llevó a cabo en un contexto exploratorio-experimental, en la formulación de extractos vegetales con el objetivo de evaluar su eficacia frente a agentes fitofúngicos. Además, se encuadra dentro de la categoría de investigación exploratoria, dado que no existen investigaciones previas relacionadas con la elaboración de extractos de *Rottboelli cochinchinensis* destinados a la prevención del ataque de hongos fitopatógenos, como *Lasiodiplodia theobromae* y *Moniliophthora roreri*.

3.3. Métodos de investigación

La investigación empleó una combinación de los métodos inductivo, deductivo y analítico para abordar el estudio de los extractos vegetales de *R. cochinchinensis* (Lour) W.D. como agentes Fito fungicidas agrícolas.

- **Deductivo:** Para identificar los efectos específicos derivados de la aplicación del extracto vegetal de *R. cochinchinensis*.
- **Analítico:** Se aplicó para examinar los datos recopilados durante la evaluación de las variables de respuesta frente a la acción del extracto vegetal *R. cochinchinensis* en presencia de agentes fitofúngicos, lo que servirá como base para la elaboración de los resultados de la investigación.

- **Observación:** Se utilizó el extracto vegetal de *R. cochinchinensis* para inhibir dos fitopatógenos, donde se observó la inhibición micelial de los mismos.

3.4. Fuentes de recopilación de la información

3.4.1. Fuente primaria

Se obtuvo esta información de campo de los distintos experimentos que se realizaron con los implementos de laboratorio en los que se aplicaron los tratamientos de estudio e investigación, y posteriormente fueron registrados para obtener así los resultados.

3.4.2. Fuente secundaria

Estas son fuentes que provienen de manera investigativa a través de artículos científicos, revistas, tesis, libros, entre otros, los cuales serán utilizados para consultar, verificar y comparar con los resultados obtenidos en la investigación realizada.

3.5. Diseño de la investigación

3.5.1. Factores en estudio

Se estudiaron métodos de extracción vegetal sobre la inhibición micelial de hongos fitopatógenos (*Moniliophthora roreri* y *Lasiodiplodea Theobromae*).

3.5.2. Tratamientos

Para llevar a cabo los experimentos de la actividad antagónica de los extractos vegetales sobre la inhibición micelial de hongos fitopatógenos (*Moniliophthora roreri* y *Lasiodiplodea Theobromae*) Se establecieron cinco tratamientos con 3 repeticiones y 3 unidades experimentales cada uno los cuales se detallan en la (tabla 1).

Tabla 1*Tratamientos de estudio*

	Tratamientos
T1	Acuoso 100%
T2	Etanólico 100%
T3	Hidroalcohólico 50/50%
T4	Ridomil
T5	Agua

Elaborado: Autor

3.5.3. *Diseño experimental*

El estudio se llevó a cabo utilizando un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA), se contó con 5 tratamientos, tres repeticiones y tres unidades experimentales por cada uno. Para realizar las comparaciones entre las medias se utilizó la prueba de Tukey al 0.5 (Tabla 2).

Tabla 2*Esquema del análisis de varianza*

Fuentes de variación	Grados de libertad
Tratamientos	4
Repeticiones	2
Error	8
Total	14

Elaborado: Autor

3.6. Instrumentos de investigación

3.6.1. Manejo del experimento

3.6.1.1. Recolección de la *Rottboellia conchinchinensis*.

La recolección de las plantas se realizó en la extensión de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo Finca Experimental “La María” y fueron provenientes de un entorno aislado de cultivos con el fin de prevenir la contaminación con residuos químicos en los extractos vegetales. Para la selección, se optó por plantas que exhibieran características morfológicas superiores, priorizando la vitalidad de su coloración verde, su estado de salud óptimo, la presencia de semillas y una altura media de 1,50 metros.

3.6.1.2. Extracción con solventes polares.

El material, en estado seco y molido, fue sometido a un proceso de extracción a temperatura ambiente utilizando 500 ml de etanol para el extracto 100% alcohólico y 250 ml de etanol con 250 ml de agua destilada para el extracto hidroalcohólico 50/50%, durante un período de 48 horas, con agitación constante. Posteriormente, se repitió este procedimiento. Los extractos resultantes fueron sometidos a un proceso de filtración mediante papel filtro y se combinaron.

El residuo obtenido de la extracción previa se dejó reposar a temperatura ambiente, los solventes fueron evaporados bajo presión reducida utilizando un evaporador rotatorio Heidolph, y se calculó el rendimiento en términos de gramos de extracto obtenido por cada 50 gramos de material vegetal seco. Los extractos resultantes se utilizaron para llevar a cabo análisis químicos y cromatográficos preliminares.

3.6.1.3. Extracción acuosa.

El material seco fue extraído con agua, mediante una decocción al 20% durante 15 minutos. El extracto acuoso que se obtuvo se liofilizó en un equipo liofilizador L-T4 Rificor y se calculó su rendimiento en g de liofilizado/100 g de partes aéreas.

3.6.1.4. Pruebas químicas.

Los ensayos para la identificación cualitativa de metabolitos secundarios, se basaron en identificar metabolitos secundarios en los extractos (etéreos, alcohólicos y acuosos) de las partes aéreas de la planta, se siguió los procedimientos como se muestra en las variables evaluadas.

3.6.1.5. Aislamiento de *Moniliophthora roreri*.

El aislamiento de este fitopatógeno se llevó a cabo a través de la identificación de una mazorca de cacao que presentaba síntomas de infección por *M. roreri* en la plantación experimental ubicada en La Finca Experimental “La María” del cantón Mocache. La muestra fue posteriormente identificada, etiquetada y transportada a las instalaciones de los laboratorios de Biología y Microbiología de la UTEQ.

Para minimizar la presencia de contaminantes externos que pudieran interferir con el proceso de aislamiento, la muestra fue sometida a un lavado exhaustivo con agua y posteriormente se procedió a su secado al ambiente.

Se preparó un medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) a pH=5.7, el cual fue esterilizado adecuadamente antes de ser vertido en placas de Petri previamente esterilizadas. A continuación, se realizó un corte horizontal en la parte de la mazorca que mostraba síntomas y un corte interno para extraer una porción del área necrótica, que fue luego inoculada en las placas de Petri con el medio de cultivo preparado. Las placas de Petri se incubaron a una temperatura de 28 °C durante un período de 48 horas con el propósito de observar y evaluar el crecimiento colonial resultante.

3.6.2. Variables evaluadas

3.6.2.1. Rendimiento seco de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour) W.D.

Tras la recolección de las muestras, se transportaron al laboratorio donde se procedió a seccionar la planta, enfocándose principalmente en el tallo y las hojas para moler las muestras utilizando un molino de aspas cortas. Posteriormente, se registró el peso de la

muestra en su estado fresco, seguido por el proceso de secado el cual se realizó a dos temperaturas diferentes las cuales fueron a menos de 45° C y a más de 45° C hasta llegar a peso constante en una estufa en contra corriente.

Una vez completado el proceso de secado, se efectuó la medición del peso de la muestra ya deshidratada, permitiendo calcular el rendimiento del secado de la planta.

3.6.2.2. Rendimiento del extracto de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour) W.D.

La obtención de extractos vegetales de la planta caminadora implicó el tratamiento de muestras secas mediante un proceso de molienda empleando un molino de aspas cortas. Se extrajo una porción de muestra seca ajustada a 50 gramos de peso, mientras se prepararon tres matraces: uno con 500 ml de etanol para el extracto 100% etanólico, otro con 250 ml de etanol y 250 ml de agua para el extracto hidroalcohólico, y un tercero con 500 ml de agua destilada calentada a 70°C para el extracto acuoso.

Posteriormente, se introdujeron los 50 gramos de muestra en cada matraz correspondiente para iniciar la obtención de los distintos extractos vegetales. El proceso de extracción se llevó a cabo mediante agitación constante utilizando un equipo de agitación conocido como "vortex" durante un lapso de 24 horas. Una vez transcurrido este tiempo, los extractos fueron sometidos a un proceso de filtración utilizando papel filtro.

Los extractos etanólico y acuoso fueron introducidos en un rotavapor para su concentración, mientras que el extracto hidroalcohólico pasó por un destilador y posteriormente por el rotavapor. Estos procesos tuvieron como objetivo separar el soluto del solvente.

Tras la separación del solvente, los extractos resultantes se almacenaron en refrigeración hasta el siguiente paso del proceso, que consistió en la transformación del extracto líquido a extracto seco. Este proceso permitió obtener el rendimiento del extracto final

3.6.2.3. Determinación de metabolitos secundarios.

Se envió 100 g de muestra seca para ser evaluados los distintos metabolitos presentes según la metodología:

- ***Determinación de alcaloides.***

El Ensayo de Dragendorff se tomó una alícuota del extracto y se añadió una gota de ácido clorhídrico concentrado. Se calentó levemente y se dejó enfriar hasta que el pH se torne en valores ácidos, posteriormente se añadieron 3 gotas del reactivo de Dragendorff. Los resultados del ensayo se consideraron positivos si se aprecian las siguientes características:

Presencia (+), alta presencia (++), precipitado (+++).

- ***Determinación de azúcares reductores.***

Ensayo de Fehling. Se adicionó a una alícuota del extracto 2 mL de reactivo y se calentará en baño de agua de 5 a 10 minutos. El ensayo se consideró positivo (+++) si la solución toma coloración roja o aparece un precipitado rojo.

- ***Determinación de saponinas.***

Ensayo de la espuma. Se tomó una alícuota del extracto y se diluyó en 5 veces su volumen en agua, agitándose fuertemente el tubo de ensayo, de 5 a 10 minutos. El ensayo se consideró positivo (+++) si aparece una espuma de 2 mm de espesor como mínimo y persistente por más de 2 minutos.

- ***Determinación de flavonoides.***

Ensayo de Shinoda. Se tomó una alícuota del extracto y se añadió 1 ml de ácido clorhídrico concentrado y una pequeña porción de cinta de magnesio metálico. Después de 5 minutos se añadió 1 ml de alcohol amílico. Se consideró un ensayo positivo (+++) cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo intenso en todos los casos.

- ***Determinación de compuestos fenólicos y/o taninos.***

Ensayo de cloruro férrico. A una alícuota del extracto se añadió acetato de sodio para neutralizar y 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica. El ensayo se consideró positivo (+++) para compuestos fenólicos en general, al observarse un cambio de coloración a rojo-vino; para taninos del tipo pirocatecólicos una coloración verde intensa y para taninos del tipo pirogalotánicos una coloración azul.

- ***Determinación de estructuras del tipo polisacáridicas.***

El ensayo de mucílagos. Una alícuota del extracto se enfrió a una temperatura de 0°C a 5°C y se observó si la solución toma una consistencia gelatinosa. El ensayo se consideró positivo (+++) si la muestra toma consistencia gelatinosa.

- ***Determinación de triterpenos y esteroides.***

Ensayo de Liebermann-Burchard. Se adicionó 1 ml de anhídrido acético y se mezcló bien. Por la pared del tubo de ensayos se dejarán caer 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. El ensayo es positivo si el cambio de coloración es rápido; de rosado a azul muy rápido (+++), a verde intenso visible rápido (++), a verde oscuro-negro al final de la reacción (+). Este método permite diferenciar las estructuras esteroideas de las triterpenoides, las primeras producen coloraciones azules o azul verdoso, mientras que en las segundas se observa rojo, rosado o púrpura.

- ***Determinación de aminoácidos libres o aminas.***

Ensayo de Ninhidrina. Se tomó una alícuota del extracto alcohólico se mezcló con 2 ml de solución de Ninhidrina al 2 % en agua. La mezcla se calentó 5-10 minutos en baño de agua. Este ensayo se consideró positivo cuando el extracto presentó una coloración azul violácea ante la presencia de Ninhidrina.

- ***Determinación de Quinonas.***

Ensayo de Borntanger. Se evaporó el extracto alcohólico en baño de agua y el residuo se redisolvió en 1 ml de cloroformo, luego se adicionó 1 ml de hidróxido de sodio al 5 % en agua, posteriormente se agitó mezclando las fases, y se dejó en reposo hasta su separación. El ensayo se consideró.

3.6.2.4. Porcentaje de inhibición.

Para la prueba de actividad inhibitoria se utilizó el método de siembra directa con crecimiento. Para la siembra se tomó un área de crecimiento 5 mm x 5 mm de cada aislado que se encuentre en el mismo tiempo de crecimiento (7 días), el cual se inoculó sobre la superficie del medio de cultivo papa- dextrosa- agar (PDA), en ambiente aséptico. Una vez realizada la siembra de los diferentes aislados, se procedió a efectuar la prueba de inhibición, adicionándole 250 µl de cada extracto sobre la superficie de crecimiento de cada aislado y su posterior incubación a 30°C. En las evaluaciones se incluyó un control positivo con ridomil (4 mg/ml) y un testigo absoluto sin tratamiento. La prueba se realizó por 3 repeticiones y se midió el crecimiento radial a las 96 y 168 horas, para esto se utilizó la fórmula de (PICR) y el resultado se interpretó como porcentaje de índice de inhibición.

$$PICR (\%) = \frac{R1 - R2}{R1} * 100$$

Donde:

PICR= Porcentaje de inhibición de crecimiento radial.

R1= Radio mayor (Radio de patógeno testigo).

R2= Radio menor (Radio del patógeno en enfrentamiento con el antagonista).

3.7. Tratamiento de datos

El análisis estadístico de los resultados obtenidos de las variables bajo estudio, se realizó mediante un análisis de varianza (DCA), para determinar diferencias significativas. Se aplicó la prueba de significancia de Tukey al 5% para establecer la diferencia significativa de los factores, esto a su vez es ejecutada en el software estadístico InfoStat (2020e).

3.8. Recursos humanos y materiales

3.8.1. Recursos humanos

- Docente tutor: Ing. Pablo Cesar Ramos Corrales Ph.D
- Estudiante: Josué Daniel Kang Moscoso

3.8.2. Recursos materiales

- Agua destilada
- Alcohol 75%
- Alcohol 100%
- Bisturí
- Botellas esterilizables de 500 ml
- Cajas Petri
- Cloro
- Cubreobjetos
- Embudos simples de vidrio
- Frascos Chopp de vidrio (500 ml)
- Fundas de polipropileno
- Gasa estéril
- Guantes Quirúrgicos
- Juego de Micro-pipetas (0.2-10 μ l, 2- 0 μ l, 20-200 μ l y 100-1000 μ l)
- Papel Toalla
- Piseta de 500 ml
- Puntas amarillas de micro-pipeta (200 μ l)
- Tijeras Quirúrgicas
- Tubos de Eppendorf (1.5 ml)
- Vasos de precipitación (50 ml, 250 ml y 500ml)

3.8.3. Equipos

- Agitador

- Autoclave
- Balanza de 0.001 g
- Baño María
- Cámara de flujo Laminar
- Centrífuga
- Destilador de agua
- Estufa
- Incubadora
- Nevera
- Vórtex

3.8.4. Material biológico

- La *Rottboellia cochinchinensis* (Lour) W.D. recolectada en las instalaciones de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo Campus “La María” en la provincia de Los Ríos cantón Mocache.
- Mazorcas de cacao CCN-51 para obtener el hongo patógeno *Moniliophthora roreri* en la plantación experimental ubicada en la Universidad Técnica Estatal de Quevedo extensión “La María” en la provincia de Los Ríos cantón Mocache.
- *Lasiodiplodia theobromae* perteneciente al banco de cepas patogénicas del laboratorio de Biología y Microbiología de la UTEQ.

3.8.5. Materiales de oficina

- Computador
- Cuaderno
- Lapicero
- Pendrive

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1. Rendimiento seco de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour) W.D

Se determinó que la mejor temperatura y tiempo de exposición permite definir el mayor rendimiento de material seco de los restos vegetales de la *R. cochinchinensis*, a menores de 45° C y 10 h de exposición con un rendimiento 63,2 % de material seco. A comparación de a temperaturas superiores a los 45° C y 7 h de exposición se verifico un rendimiento 52,5 % de material seco (Tabla 3).

Tabla 3

Rendimiento del peso seco de la muestra puesta a secar en diferentes temperaturas.

TEMPERATURA (°C)	Peso Fresco (g)	Peso Seco (g)	RENDIMIENTO %	Tiempo (h)
<45	1000	632,5	63,2	10 h
>45	1000	525,2	52,5	7 h

Elaborado: Autor

4.1.2. Rendimiento del extracto de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour) W.D

El análisis de rendimiento del extracto determina el proceso de extracción hidroalcohólico, permite la obtención de 19 g del extracto de *R. cochinchinensis*, en contraste con la aplicación de la extracción por la aplicación del 100% de etanólico que exhibió el rendimiento más bajo con 2 g. Con el extracto acuoso que logró 10 g. esto señala al extracto 100% Etanólico con una reducción significativa en comparación con los otros extractos analizados (Tabla 4).

Tabla 4

Rendimiento del extracto seco

Acuoso	Hidro alcohólico	100% Etanólico
10g	19g	2g

Elaborado: Autor

4.1.3. Determinación de metabolitos secundarios

Tras analizar los extractos vegetales de *R. cochinchinensis*, se identificaron distintos metabolitos secundarios.

Los extractos acuosos e hidroalcohólicos exhibieron la mayor concentración de estos metabolitos en comparación con el extracto 100% etanólico, donde la mayoría de los metabolitos no estaban presentes. **Alcaloides:** Los extractos a procedentes del método de extracción por acuosos e hidroalcohólicos revelaron la presencia de este metabolito (+), mientras que el método de extracción por etanólico no se detectaron la presencia de alcaloides. **Azucares Reductores:** Los extractos a procedentes del método de extracción por acuosos se verifico un alto contenido (++) y por e hidroalcohólicos revelaron la presencia de este metabolito (+), mientras que el método de extracción por etanólico no se detectaron la presencia de azucares reductores. **Saponinas:** Se pudo observar la presencia exclusiva de saponinas únicamente en el extracto acuoso (+), mientras que en los extractos hidroalcohólico y etanólico no se detectó la presencia de estos compuestos (-). **Flavonoides:** Los extractos a procedentes del método de extracción por acuosos e hidroalcohólico se verifico un alto contenido (++) , mientras que el método de extracción por etanólico no se detectaron la presencia de flavonoides. **Fenólicos y/o Taninos:** En todos los extractos vegetales analizados se identificó la presencia de fenoles y/o taninos (+). **Polisacáridos:** Los extractos a procedentes del método de extracción por solventes hidroalcohólico y etanólico revelaron la presencia de este metabolito (+), mientras que el método de extracción acuosa no se detectaron la presencia de polisacáridos. **Triterpenos y Esteroides:** Los extractos a procedentes del método de extracción por acuosos e hidroalcohólicos revelaron la presencia de estos metabolitos (+), mientras que el método de extracción por etanólico no se detectaron la presencia de triterpenos y esteroides. **Aminoácidos libres o Aminas:** En relación a la presencia de aminoácidos libres o aminas, no se evidenció la detección de estos compuestos en ninguno de los tres extractos vegetales analizados (-). **Quinonas:** No se pudo detectar la presencia de quinonas en ninguno de los tres extractos vegetales analizados (-). (Tabla 5).

Tabla 5

Metabolitos secundarios presentes en los extractos vegetales luego se realizar una prueba química.

Compuestos presentes	Extractos vegetales		
	Acuoso	Hidroalcohólico	100% etanol
Alcaloides	+	+	-
Azucares Reductores	++	+	-
Saponinas	+	-	-
Flavonoides	++	++	+
Fenólicos y/o Taninos.	+	+	+
Polisacáridos	-	+	+
Triterpenos y Esteroides.	+	+	-
Aminoácidos libres o Aminas	-	-	-
Quinonas.	-	-	-

Nota: (-) No detectable, (+) Presencia, (++) Alta presencia.

Elaborado: Autor

4.1.4. Porcentaje de inhibición micelar de la *Moniliophthora roreri*

En el **tercer día**, después de la inoculación de los extractos vegetales. Se evidenciaron diferencias significativas en la variable de porcentaje de inhibición en relación con la inoculación de los extractos vegetales, al patógeno evaluado; se registró que el extracto hidroalcohólico exhibió la mayor inhibición micelial, con un porcentaje del 67.97%, superando al fungicida químico ridomil que obtuvo la inhibición de 58.96%. En contraste, porcentajes bajos de inhibición, con el extracto acuoso la inhibición de 20.96%, y el etanólico, de 16.20% de inhibición micelial.

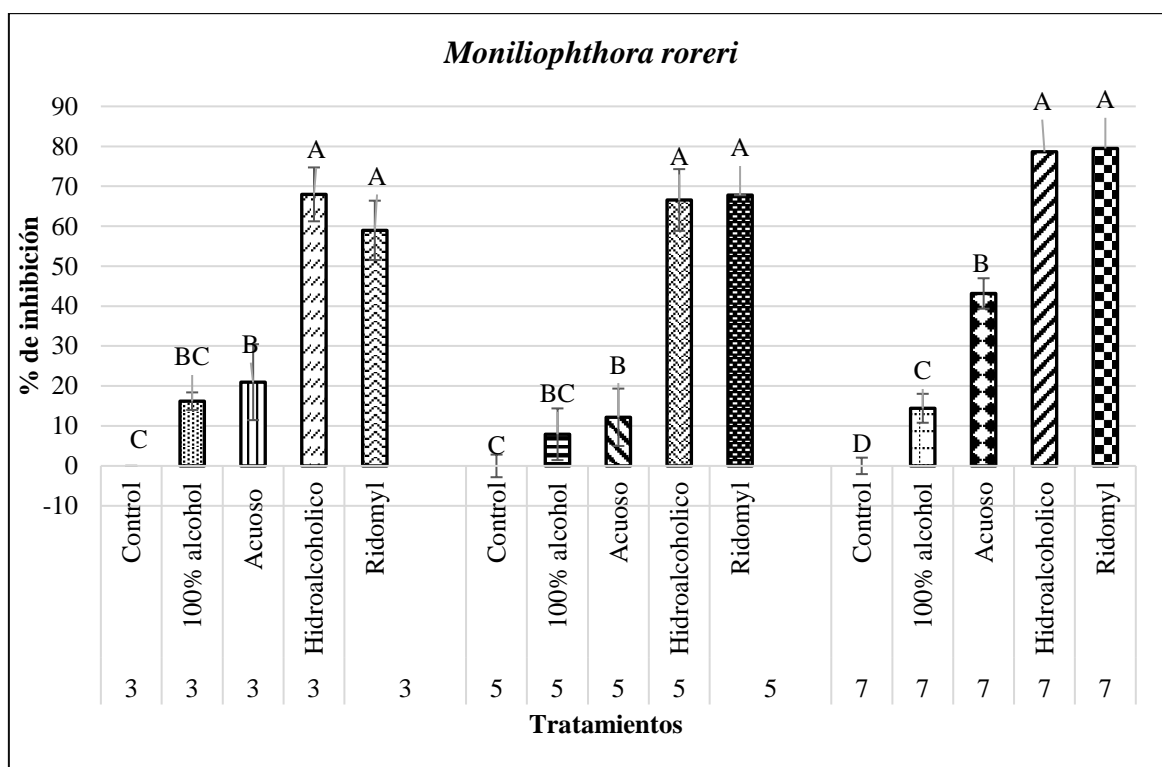
En el **quinto día**, después de la inoculación de los extractos vegetales. Se evidenciaron diferencias significativas donde se pudo determinar que el ridomil obtuvo el mayor porcentaje de inhibición con 67.79% crecimiento micelial. Sin embargo, con similar respuesta el extracto contenido en hidroalcohólico genera la inhibición del 66.56%. En

contraste, porcentajes notablemente bajos de inhibición, el extracto acuoso la inhibición de 12.17%, y el etanólico 7.92% de inhibición micelar.

En el **séptimo día**, después de la inoculación de los extractos vegetales. Se detectaron diferencias significativas en función de los extractos vegetales utilizados y el patógeno evaluado; se pudo definir que tanto el ridomil como el extracto hidroalcohólico mostraron similitudes en los niveles de inhibición micelial del patógeno, con la inhibición de (79.46% y 78.64%), respectivamente. Estos resultados fueron notablemente superiores a los otros extractos. El extracto acuoso y el etanólico con inhibición (43.16%, y 14.42%). Respectivamente (Figura 1).

Figura 1

Porcentaje de inhibición de M. rozeri al tercer, quinto y séptimo día después de inoculados los extractos vegetales



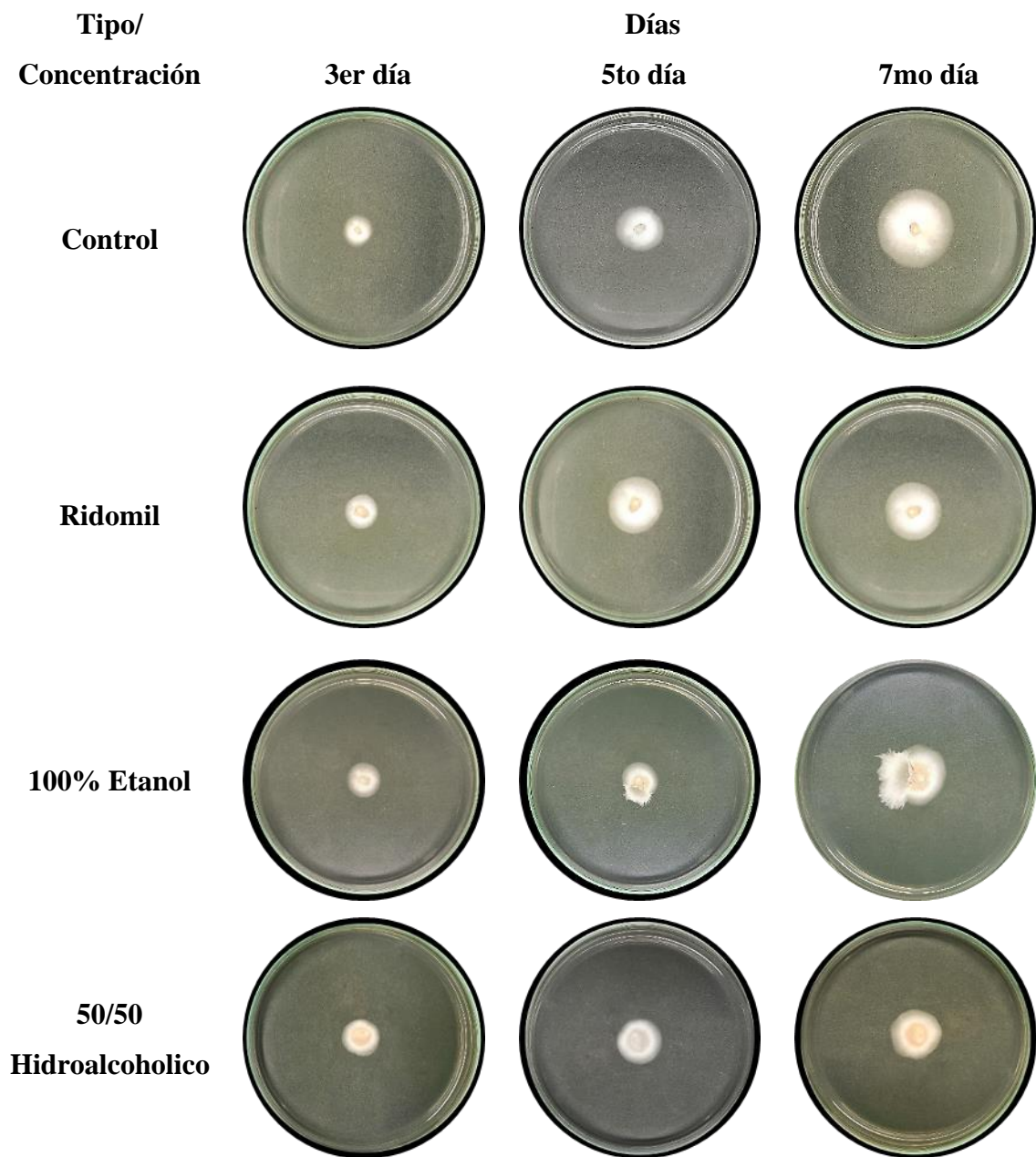
Nota: Las barras de error indican \pm DE; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a $p < 0.05$ (test de Tukey).

Los registros fotográficos que documentan el crecimiento en relación con el porcentaje de inhibición de *M. rozeri* revelan una tasa de crecimiento caracterizada por su lentitud, atribuible a las características reproductivas del patógeno. Sin embargo, se ha demostrado

que existe inhibición al concluir el séptimo día del experimento. Con esto se destaca la eficiencia del extracto hidroalcohólico 50/50%, exhibiendo un porcentaje de inhibición superior en comparación al fungicida químico Ridomil y a su vez diferenciándose de otros extractos que presentaron un bajo nivel de inhibición. (Figura 2).

Figura 2

Porcentaje de inhibición de M. royeri, en la parte superior se muestran los días de evaluación y en el costado izquierdo muestra los diferentes tratamientos



Acuoso



Nota: Columna izquierda (Tipo y Concentración de extracto); Parte superior (días de evaluación).

Elaborado: Autor

4.1.5. Porcentaje de inhibición micelar de la Lasiodiplodia theobromae

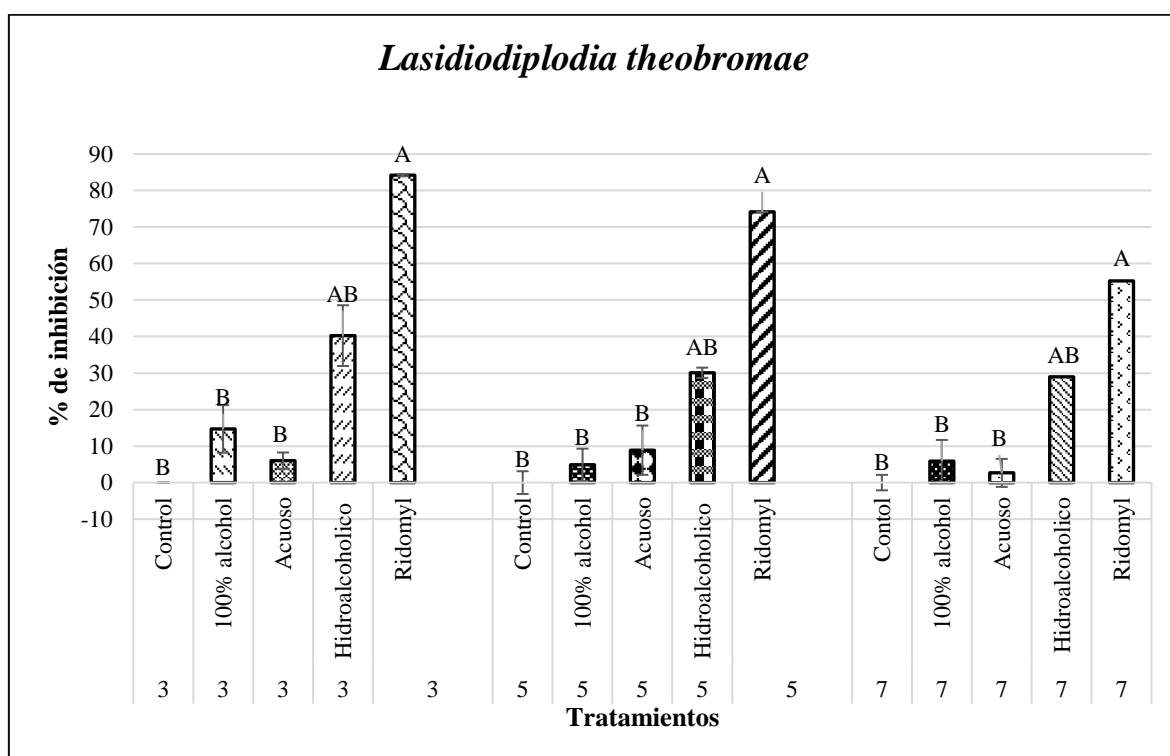
En el **tercer día**, después de la inoculación de los extractos vegetales. Se evidenciaron diferencias significativas en la variable de porcentaje de inhibición en relación con la inoculación de los extractos vegetales, al patógeno evaluado; se registró que el fungicida químico mostró la mayor inhibición micelar, con un porcentaje del 84.22%, superando los extractos vegetales; el hidroalcohólico inhibió 40.26%, el extracto etanólico inhibió poco 14.7%, y el extracto acuoso demostró el menor porcentaje de inhibición de 6.02%.

En el **quinto día**, después de la inoculación de los extractos vegetales. Se evidenciaron diferencias significativas en la variable de porcentaje de inhibición al utilizar los diferentes tratamientos, se exhibió que el fungicida químico mostró el mayor porcentaje de inhibición, con el 74.17%. Esta diferencia fue significativa en comparación con los extractos vegetales; el hidroalcohólico inhibió 30.08%, el extracto acuoso al 8.88%, y el extracto etanólico demostró el menor porcentaje de inhibición de 4.89%.

En el **séptimo día**, después de la inoculación de los extractos vegetales. Se detectaron diferencias significativas en el porcentaje de inhibición micelar al utilizar los diferentes tratamientos. Se pudo definir que el fungicida químico mostró el mayor porcentaje de inhibición con 55.25%. Esta diferencia fue significativa en comparación con los extractos vegetales: el hidroalcohólico inhibió 28.98%, el extracto etanólico de 5.58%, y el extracto acuoso de 2.66% inhibición micelar. (Figura 3).

Figura 3

Porcentaje de inhibición de *L. theobromae* al tercer, quinto y séptimo día después de inoculados los extractos vegetales

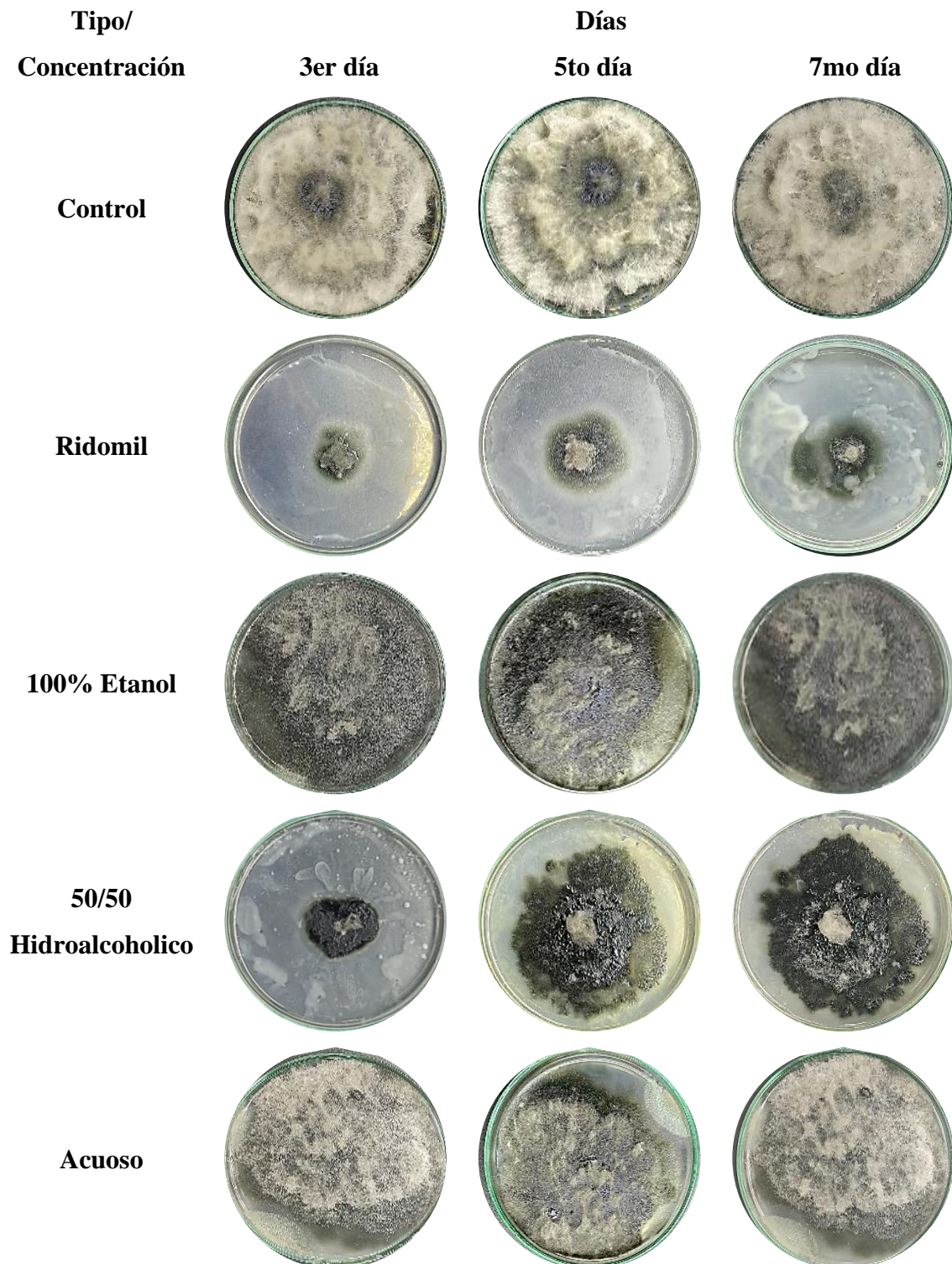


Nota: Las barras de error indican \pm DE; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a $p < 0.05$ (test de Tukey).

Los registros fotográficos que documentan el crecimiento en relación con el porcentaje de inhibición de *L. theobromae* muestran una tasa de crecimiento completa debido a la rápida capacidad reproductiva del patógeno. En el tercer día, tanto en el grupo control como en el extracto al 100% de etanol, se observó un crecimiento completo, mientras que el fungicida químico ridomil mostró una inhibición notable. Alrededor del séptimo día, se notó que los extractos acuosos y al 100% de etanol no lograron inhibir completamente el patógeno, pero sí limitaron su capacidad de esporulación. El extracto que demostró la mayor capacidad de inhibición fue el hidroalcohólico 50/50, a pesar de la agresividad de *L. theobromae*, lo que sugiere que los extractos de la caminadora sí influyen en la inhibición de este patógeno (Figura 4).

Figura 4

Crecimiento de L. theobromae, en la parte superior se muestran las horas de evaluación y en el costado izquierdo muestra los diferentes tratamientos



Nota: Columna izquierda (Tipo y Concentración de extracto); Parte superior (días de evaluación).

Elaborado: Autor

4.2. Discusión

En este estudio, se logró identificar que el rango óptimo de temperatura para la extracción de compuestos derivados de *R. cochinchinensis* fue a temperatura menores a 45°C, mantenido durante un período de 10 horas, lo que resultó en la obtención del 63,2% de material seco. Estos datos concuerdan con lo descrito por Ramos *et al* (2022) quien indica que los parámetros cruciales en el proceso son la temperatura de secado y la velocidad del flujo de aire. En su investigación, determinó que, para lograr un mayor rendimiento de un polvo rico en saponinas, es necesario mantener una temperatura de secado igual o inferior a 50°C.

El análisis de rendimiento del extracto determinó que la extracción hidroalcohólica, permitió la obtención de 19 g de extracto *R. cochinchinensis*, diferenciándose de la extracción con 100% de etanólico que exhibió el rendimiento más bajo con 2 g y con el extracto acuoso que logró 10 g. Lozano *et al* (2022), indica que el impacto de las temperaturas de secado en la preservación de los componentes químicos de las plantas, que desempeñan un papel en el control biológico contra patógenos. Mientras que Luisetti *et al* (2020), destaca que las temperaturas elevadas pueden provocar la desnaturalización de las proteínas en las plantas, lo que altera su estructura y función, conduciendo a la pérdida de su actividad biológica.

En el estudio de extracción y cuantificación de compuestos se observó una mayor persistencia de componentes en la extracción hidroalcohólica, evidenciada principalmente por las concentraciones elevadas de flavonoides. Cevallos (2021) señala que los flavonoides son compuestos polifenólicos que tienden a ser solubles tanto en agua como en alcohol. Por otra parte, Molina *et al* (2022) menciona que la combinación de estos dos solventes en la extracción hidroalcohólica permite una mayor capacidad para disolver una amplia gama de compuestos, incluyendo los flavonoides.

La existencia de compuestos vinculados al grupo de los polifenoles desencadenó una respuesta inhibitoria contra *M. royeri*. El extracto hidroalcohólico presentó la mayor inhibición micelial, alcanzando un porcentaje del 67.97%, superando la efectividad del fungicida químico ridomil. Esto concuerda con la investigación ejecutada por Ricardez *et al* (2020), quien destaca que la inhibición de *M. royeri* es el resultado de la acción de los compuestos polifenólicos presentes en el extracto hidroalcohólico. Mientras tanto Muzzio

(2021), destaca que los polifenoles son conocidos por sus propiedades antimicrobianas y antifúngicas, y pueden interferir con los procesos vitales de los microorganismos, como la permeabilidad de las membranas celulares, la síntesis de proteínas y la respiración celular.

Se observó un efecto similar de inhibición en el desarrollo de *L. theobromae* al aplicar el extracto hidroalcohólico, logrando una inhibición del 40.26% en el crecimiento del patógeno. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Flores *et al* (2023) quien obtuvo resultados de inhibición cercanos al 50% destacando que estos compuestos pueden causar daño a nivel celular, afectando las estructuras esenciales para el crecimiento de las esporas. Por otra parte, Cárdenas *et al* (2017), señala que los componentes del extracto generan la desestabilización de membranas celulares o la interferencia con la división celular, lo que limita la capacidad de las esporas para proliferar.

CAPÍTULO V
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- La metodología de extracción aplicada, permitió determinar que a 45°C y durante 10 horas el secado de las plantas resulta el más óptimo, siendo el extracto hidroalcohólico con mayor rendimiento de extracto seco (19g), superando a los otros tipos de extractos vegetales.
- El extracto acuoso y el extracto hidroalcohólico de *Rottboellia cochinchinensis* exhiben perfiles de metabolitos secundarios significativamente más complejos y diversos en comparación con el extracto 100% etanólico. proporcionando una comprensión detallada de la composición química de esta especie vegetal que pueden ser aprovechadas como control orgánico.
- Se observó una inhibición del crecimiento micelial de *M. roreri* y *L. theobromae* tras la exposición a extractos vegetales durante tres, cinco y siete días. Destacando el extracto hidroalcohólico inhibiendo significativamente el crecimiento de los hongos generando estrés e impidiendo la esporulación de los hongos.

5.2. Recomendaciones

- Se establece como recomendación el uso del extracto hidroalcohólico de *Rottboellia conchinchinensis* para el control biológico de la *Moniliophthora roreri* y *Lasiodiplodia theobromae* en condiciones de campo.
- Determinar si los metabolitos secundarios de los extractos de *R. conchinchinensis* presentan propiedades alelopáticas.
- Investigar en el campo para evaluar la efectividad de los extractos vegetales de *R. conchinchinensis* en situaciones agrícolas reales. incluyendo variables como las cantidades adecuadas, formas de aplicación y su influencia en la salud de las plantas y el entorno.

CAPÍTULO VI
BIBLIOGRAFÍA

6.1. Bibliografía

- Alama, I., Maldonado, E., y Gálvez, E. (2006). *Lasiodiplodia theobromae* afectando el Cultivo de Palto (*Persea americana*) en las condiciones de Piura-Perú. *Universalia*, 11(2).
- Almagro, I., Torres, A., Jines, P., Verdezoto, H., y Ramos, E. (2018). Aplicación de fungicidas sintéticos y orgánicos en el control de *Bipolaris oryzae* en arroz. *RECIAMUC*, 2(2).
- Anzalone, A., Meléndez, L., y Gamez, A. (2006). Evaluación de la interferencia de *Rottboellia cochinchinensis* sobre el maíz (*Zea mays* L.) a través de un método aditivo. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 23(4).
- Bartra, S. (2017). Efecto de fungicidas orgánicos y químico en el control del moho gris (*Botrytis cinerea* Pers.) de la granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.) en el distrito de Molino de la Región Huánuco. Universidad Nacional Agraria de la Selva.
- Brindha, T., Rathinam, R., y Dheenadhayalan, S. (2021). Antibacterial, antifungal and anticorrosion properties of green tea polyphenols extracted using different solvents. *Asian Journal of Biological and Life Sciences*, 10(1), 62-66.
- Burbano, Ó. (2020). Resistencia de plantas a patógenos: una revisión sobre los conceptos de resistencia vertical y horizontal. *Revista argentina de microbiología*, 52(3), 245-255.
- Blanco, Y. (2006). La utilización de la alelopatía y sus efectos en diferentes cultivos agrícolas. *Cultivos tropicales*, 27(3), 5-16.
- Caicedo, E. (2015). Fungicidas orgánicos para el control de la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella finjensis*), en el cultivo de banano (Musa AAA) Valencia-Los Ríos. Universidad Técnica Estatal de Quevedo.
- Cabeza, A., Balaguera, E., y Useche, S. (2021). Alelopatía del extracto de *Campomanesia lineatifolia* sobre *Taraxacum officinale*. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 22(3).
- CamachoA., Ramos, A., Ávila, N., Sánchez-Bernal, E., y López-Garrido, S. (2020). Las defensas físico-químicas de las plantas y su efecto en la alimentación de los rumiantes. *Terra Latinoamericana*, 38(2), 443-453.

- Cárdenas González, O. E., Martín, D., Martín, R., y Pacheco, J. (2017, November). Actividad antifúngica de extractos polares de *Solanum dolichosepalum* contra *Fusarium oxysporum*, y evaluación de su capacidad antioxidante. In Encuentro Facultad de Ciencias-UPTC Décima Versión-II Encuentro Nacional Segunda Versión-2015.
- Cevallos, E. (2021). Extracción hidroalcohólica de los compuestos bioactivos del amaranto (*Amaranthus* spp.) en función del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante (Master's thesis, Ecuador: Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC)).
- Carrillo, A., Quevedo, N., y García, M. (2022). Evaluación de un fungicida orgánico a base de taninos flavonoides, fenoles y saponinas para el control de Sigatoka Negra en banano. *Revista científica agroecosistemas*, 10(3).
- Cascon, F., y Kronfle, J. (2018). Evaluación de número de aplicaciones de fungicidas orgánicos en producción de plátano (*Musa paradisiaca* AAB). Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.
- Castaño, J. (2015). Principios básicos de hongos fitopatógenos. Editorial Universidad de Caldas.
- Celis, A., Mendoza, C. , y Pachón, E. (2009). Uso de extractos vegetales en el manejo integrado de plagas, enfermedades y arvenses: revisión. *Temas agrarios*, 14(1).
- Celis, Á., Mendoza, C., Pachón, M., Cardona, J., Delgado, W., y Cuca, L. E. (2008). Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. Una revisión. *Agronomía colombiana*, 26(1).
- Colque, G., y Iquize, E. (2020). Sensibilidad del hongo (*Leptosphaeria polylepidis*) de la Keñua (*Polylepis tarapacana*) a la aplicación de fungicidas orgánicos y químicos en laboratorio. *Apthapi*, 6(1).
- Coromoto, E., Goyo, Y., Tamara, M., Molina, L., y Álvarez, J. (2017). Evaluación de dos fungicidas orgánicos para el control de la antracnosis en la lechosa (*Carica papaya* L.) Y su calidad postcosecha. *Agroindustria, Sociedad y Ambiente*, 1(8).
- Correa, J., Castro, S., y Coy, J. (2014). Biology stage of *Moniliophthora roreri* in Colombia. . *Acta Agronómica*, 64(3).

- Carpio , C., Díaz , L., Beltrán , J., y Millán , G. (2020). Distribución y densidad de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) Clayton en el estado de Morelos. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 10(7), 3. doi:<https://doi.org/10.29312/remexca.v10i7.1497>
- Cedeño , A., Canchignia, F., y Garcés, F. (2021). *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maul [(sin.) *Botryodiplodia theobromae* Pat] en el cultivo de cacao: síntomas, ciclo biológico y estrategias de manejo. *Scientia Agropecuaria*, 12(4). doi:<http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2021.068>
- Delgado, M., Ortiz, A., y Zambrano, C. (2006). Resistencia de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) WD Clayton al herbicida nicosulfuron en cultivos de maíz. . *Agronomía Tropical*, 56(2).
- Delgado, M., Ortiz, A., y Zambrano, C. (2008). Poblaciones de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) WD Clayton con resistencia cruzada al foramsulfuron+ iodosulfuron. . *Agronomía Tropical*, 58(2), 175-180.
- Esqueda, V. (2005). Efecto de herbicidas sobre plantas y semillas de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W. Clayton, en caña de azúcar. *Agronomía Mesoamericana*, 45(50).
- Flores, E., Puelles, J., Mendoza, A., Chacon, K., Terrones, L., y Mendez, W. (2023). Actividad antifúngica in vitro de extractos de ramas/hojas de arándano y semilla de palta contra *Botrytis* sp. *Agroindustrial Science*, 13(2), 55-66.
- González, J. (2018). Evaluación de dosis de aplicación de fungicidas orgánicos en la producción de plátano. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.
- Gómez, D., Lobato, C., Aguirre, E., Leyva, S. G., Robles, L., y Vernon, E. J. (2020). Antifungal activity of mango kernel polyphenols on mango fruit infected by anthracnose. *LWT*, 126, 109337.
- Gavilanez, S. (2020). Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del orégano (*Origanum vulgare* L.) (Bachelor's thesis, Ecuador: Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC).).
- Granja, D. (2022). Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir de la guayusa (*Ilex guayusa* loes) en función del contenido de polifenoles totales y

- actividad antioxidante (Master's thesis, Ecuador: Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC)).
- Infante, D., Martínez, B., González, N., y Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de protección vegetal*, 24(1).
- Lauzardo, A. , Baños, S. , y Del Valle, M. (2007). Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(2).
- Luján, C., Martínez, A., Ortega, J., y Castro, F. (2010). Componentes químicos y su relación con las actividades biológicas de algunos extractos vegetales. *Química Viva*, 9(2).
- Meksawat, S., y Pornprom, T. (2010). Allelopathic effect of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) on seed germination and plant growth. *Weed Biology and management*, 20(1).
- Lozano, G., y Sopalo, A.. (2022). Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del albahaca (*Ocimum basilicum*) en función del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante (Bachelor's thesis, Ecuador: Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC)).
- Luisetti, J., Lucero, H., y Ciappini, M. C. (2020). Estudio preliminar para optimizar la extracción de compuestos fenólicos bioactivos de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Revista de Ciencia y Tecnología*, (33), 1-10.
- Molina, J. , Castellano, A., Ochoa, Z. , Chérrez, D., y Molina, P. (2022). Microencapsulación del extracto acuoso de cedrón (*Aloysia citrodora*) mediante secado por aspersión. *UTCiencia*, 9(2), 99-112.
- Montes, R. (2009). Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos. *Revista mexicana de micología*, 29.
- Montoya, B., Lemeshko, V., López, J., Pareja, A., Urrego, R., y Torres, R. (2003). Actividad antioxidativa de algunos extractos vegetales. *Vitae*, 10(2).
- Moreira, A., Cedeño, Á., Canchignia, F., y Garcés, F. (2021). *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maul [(sin.) *Botryodiplodia theobromae* Pat] en el cultivo de cacao: síntomas, ciclo biológico y estrategias de manejo. *Scientia Agropecuaria*, 12(4).

- Muzzio, M., Segovia, K., y Manzano, P. (2021). Bioprospección de especies con actividad antimicrobiana In vitro contra patógenos de cacao y banano (Doctoral dissertation, ESPOL. FCNM).
- Padilla, R. (2013). Evaluación de cuatro fungicidas orgánicos para el control de la roya (*Uromyces sppvulgaris* L.) en el cultivo de la vainita (*Phaseolus vulgaris* L.). En el cantón Pimampiro provincia de Imbabura. Universidad Técnica de Babahoyo.
- Pérez, L. (2018). *Moniliophthora roreri* HC Evans et al. y *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime: impacto, síntomas, diagnóstico, epidemiología y manejo. *Revista de protección vegetal*, 33(1).
- Picos, P., León, J., Sañudo, A., y Allende, R. (2015). *Lasiodiplodia theobromae* en cultivos agrícolas de México: Taxonomía, hospedantes, diversidad y control. *Revista mexicana de fitopatología*, 30(1).
- Pérez, V. (Enero de 2018). *Moniliophthora roreri* H.C. y *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime: impacto, síntomas, diagnóstico, epidemiología y manejo. *Revista de protección vegetal*, 33(1), 3. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522018000100007
- Pietrobelli, S., Portolan, I., Moura, G., y Franzener, G. (2020). Preparados de plantas bioactivas na indução de fitoalexinas e no controle in vitro de fitopatógenos do tomateiro. *Brazilian Journal of Development*, 6(12), 102316-102331.
- Ruano, J. (2019). Efectos no Intencionados de Fungicidas para Controlar el Tizón Tardío de la Papa. *INTAGRI*. Obtenido de <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/efectos-no-intencionados-de-fungicidas-para-controlar-el-tizon-tardio-de-la-papa>
- Ramos, S., Gutiérrez, A., Flores, Y., Lozano, M., Chura, L., Mamani, R., y Almanza, G. (2022). Determinación de parámetros de secado por aspersión para la obtención de extracto seco rico en Saponinas de residuos de escarificado de Quinoa. *Revista Boliviana de Química*, 39(4), 1-12.
- Ricardez, D., Ortiz, C., Lagunes, L., y Torres, M. (2020). Efecto antifúngico in vitro de extractos metanólicos de *Capsicum* spp. en *Moniliophthora roreri*. *Agrociencia*, 54(6), 813-824.

- Ramón, C., y Gil, A. (2021). Efecto de los parámetros de operación de la extracción asistida por ultrasonido en la obtención de polifenoles de uva: una revisión. *TecnoLógicas*, 24(51).
- Riascos, J. (2016). Control del manchado grano en el cultivo de arroz *Oriza sativa* L. con la aplicación fungicidas orgánicos e inorgánicos. Facultad de Ciencias Agrarias Universidad de Guayaquil.
- Rodríguez, A., Morales, D., y Ramírez, M. (2000). Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de hongos fitopatógenos. *Cultivos tropicales*, 21(2).
- Rosado, Y. (2016). Evaluación de fungicidas orgánicos y convencionales para el control de enfermedades foliares en ñame (*Dioscorea Alta* L.). Department of Crops and Agro-Environmental Sciences.
- Saha, S., Sengupta, J., Banerjee, D., y Khetan, A. (2012). *Lasiodiplodia theobromae* keratitis: a case report and review of literature. *Mycopathologia*, 174.
- Salvatore, M., Andolfi, A., y Nicoletti, R. (2020). The thin line between pathogenicity and endophytism: The case of *Lasiodiplodia theobromae*. *Agriculture*, 10(10).
- Sánchez, A., Sánchez, B., Cervantes, R., y Narváez, F. (2021). Control de sigatoka negra en banano con fungicidas orgánicos en época de lluvia. *Revista científica agroecosistemas*, 9(1).
- Sauhing, J.. (2017). Evaluación de fungicidas orgánicos para el manejo del manchado del grano en arroz (*Oryza sativa*) bajo riego en Abras de Mantequilla. Universidad de Guayaquil; Facultad de Ciencias para el Desarrollo.
- Scribano, F., y Garcete, V. (2016). Eficiencia de fungicidas de síntesis y orgánicos sobre la pudrición de corona del fruto de banano *Musa acuminata* Colla en la provincia de Formosa, Argentina. RIA. Revista de investigaciones agropecuarias.
- Silva, C., Parreira, M., Alves, P., y Pavani, M. (2009). Aspectos germinativos de capim-camalote (*Rottboellia cochinchinensis*). *Planta daninha*, 27, 273-281.
- Soto, M., y Rosales, M. (2016). Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus sideroxylla*. *Maderas. Ciencia y tecnología*, 18(4).

- Suárez, L., y Rangel, L. (2013). Aislamiento de microorganismos para control biológico de *Moniliophthora roreri*. *Acta agronómica*, 62(4).
- Soriano, R. (2017). Alelopatía de la maleza *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W.D. Clayton sobre otras plantas y el crecimiento in vitro de hongos fitopatógenos. *Zamorano*. Obtenido de <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/6b1ddafa-6e0a-4432-8337-54e7248d18a0/content#:~:text=La%20alelopat%C3%ADa%20es%20utilizada%20en,est%C3%A1%20asociada%20a%20factores%20ambientales>.
- Simonetti, G., Brasili, E., y Pasqua, G. (2020). Antifungal activity of phenolic and polyphenolic compounds from different matrices of *Vitis vinifera* L. against human pathogens. *Molecules*, 25(16), 3748.
- Tirado, P., Lopera, A., y Ríos, L. (2016). Estrategias de control de *Moniliophthora roreri* y *Moniliophthora perniciosa* en *Theobroma cacao* L.: revisión sistemática. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 17(3).
- Trigos, Á., Ramírez, K., y Salinas, A. (2008). Presencia de hongos fitopatógenos en frutas y hortalizas y su relación en la seguridad alimentaria. *Revista mexicana de micología*, 28.
- Valdiviezo, J. (2019). Actividad biocida del aceite esencial y extractos vegetales de *Eucalyptus globulus* L. y *Artemisia absinthium* L. obtenidos de la Región La Libertad sobre adultos de *Aedes aegypti*. *Tesis de maestría*. Universidad Nacional de Trujillo.
- Vargas, O. (2000). Evaluación de la efectividad de fungicidas orgánicos en el control de *Botrytis cinerea* Pers.:Fr. en frambueso cv heritage en condiciones in vitro y de campo. Universidad de Talca (Chile). Escuela de Agronomía.
- Zuccarelli, P. (2019). *Fungicidas: Impacto en la salud y el medio ambiente*. Obtenido de TSI Life Science: <https://tecnosolucionescr.net/blog/145-fungicidas-impacto-en-la-salud-y-el-medio-ambiente#:~:text=Los%20fungicidas%2C%20por%20m%C3%A1s%20eficaces,animales%20y%20al%20medio%20ambiente>.

CAPÍTULO VII

ANEXOS

7.1. Anexos

Anexo A. Corte y pesado de la muestra.



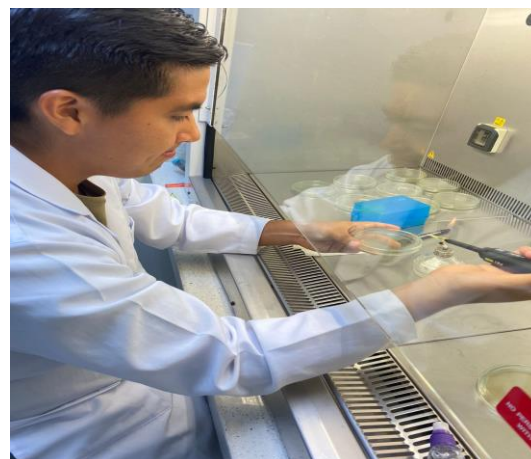
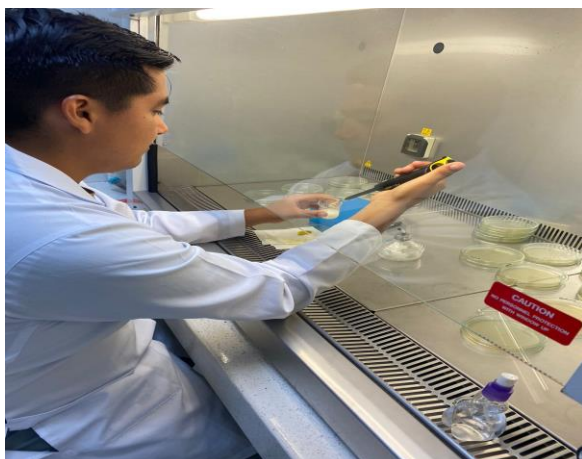
Anexo B. Implementación de etanol y reposo de las muestras.



Anexo C. Extracción del solvente de la *Rottboellia conchinchinensis* con el equipo llamado “rotavapor”.



Anexo D. Proceso de inoculación de los extractos vegetales.



Anexo E. Aislamiento de *Moniliophthora roreri* y *Lasiodiplodia theobromae*.



Anexo F. Análisis de varianza de inhibición micelar al tercer día de *M. roreri* sobre la inoculación de los extractos vegetales.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Data	14	0.98	0.96	18.16

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	10362.83	6	1727.14	47.9	<0.0001
extr	10326.16	4	2581.54	71.59	<0.0001
Rep	36.67	2	18.34	0.51	0.622
Error	252.4	7	36.06		

Total	10615.23	13
--------------	----------	----

Anexo G. Análisis de varianza de inhibición micelar al quinto día de *M. roreri* sobre la inoculación de los extractos vegetales.

Variable	N	R²	R² Aj	CV
Data	15	0.99	0.98	13.5

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	13579.85	6	2263.31	130.23	<0.0001
extrc	13396.55	4	3349.14	192.7	<0.0001
rep	183.3	2	91.65	5.27	0.0346
Error	139.04	8	17.38		
Total	13718.89	14			

Anexo H. Análisis de varianza de inhibición micelar al séptimo día de *M. roreri* sobre la inoculación de los extractos vegetales.

Variable	N	R²	R² Aj	CV
Data	15	0.99	0.98	11.81

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	15803.62	6	2633.94	101.53	<0.0001
extrc	15798.17	4	3949.54	152.24	<0.0001
rep	5.45	2	2.73	0.11	0.9015
Error	207.55	8	25.94		
Total	16011.17	14			

Anexo I. Análisis de varianza de inhibición micelar al tercer día de *L. theobromae* sobre la inoculación de los extractos vegetales.

Variable	N	R²	R² Aj	CV
Data	15	0.86	0.75	61.07

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	15235.06	6	2539.18	8.07	0.0048

extr	14246.94	4	3561.74	11.32	0.0022
Rep	988.12	2	494.06	1.57	0.2658
Error	2516.21	8	314.53		
Total	17751.27	14			

Anexo J. Análisis de varianza de inhibición micelar al quinto día de *L. theobromae* sobre la inoculación de los extractos vegetales.

Variable	N	R²	R² Aj	CV
Data	15	0.85	0.73	69.55

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	11862.9	6	1977.15	7.34	0.0065
extr	11168.55	4	2792.14	10.36	0.003
Rep	694.35	2	347.18	1.29	0.3273
Error	2155.89	8	269.49		
Total	14018.79	14			

Anexo K. Análisis de varianza de inhibición micelar al séptimo día de *L. theobromae* sobre la inoculación de los extractos vegetales.

Variable	N	R²	R² Aj	CV
Data	15	0.77	0.61	86.43

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7073.58	6	1178.93	4.58	0.026
extr	6637.97	4	1659.49	6.45	0.0127
Rep	435.61	2	217.81	0.85	0.4638
Error	2057.31	8	257.16		
Total	9130.89	14			