

**EVALUACIÓN DE UN BIOINSUMO A PARTIR DE EXTRACTOS VEGETALES, ÚTIL
PARA EL CONTROL DE LA MONILIASIS (*Moniliophthora roreri* Cif.) EN CACAO
(*Theobroma cacao* L.) FINO Y DE AROMA DE LA COSTA PACÍFICA NARIÑENSE**

ALEXANDER MUÑOZ SANCHEZ I.AF

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
MAESTRÍA EN AGROFORESTERÍA TROPICAL
SAN JUAN DE PASTO**

2018

**EVALUACIÓN DE UN BIOINSUMO A PARTIR DE EXTRACTOS VEGETALES, ÚTIL
PARA EL CONTROL DE LA MONILIASIS (*Moniliophthora roreri* Cif.) EN CACAO
(*Theobroma cacao* L.) FINO Y DE AROMA DE LA COSTA PACÍFICA NARIÑENSE**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de Magister
en Agroforestería Tropical**

ALEXANDER MUÑOZ SANCHEZ I.AF

Directora:

CLAUDIA MILENA QUIROZ OJEDA MSc.

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
MAESTRÍA EN AGROFORESTERÍA TROPICAL
SAN JUAN DE PASTO**

2018

Nota de responsabilidad

“Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado son responsabilidad exclusiva de los autores”

Artículo 1° de acuerdo n° 324 de octubre 11 de 1966 emanado por el Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación

Carlos Andrés Benavides I.A., MSc.
Jurado delegado

William Ballesteros Possu I.AF., Ph.D
Jurado

Jaime Alberto Benavides I.A., MSc.
Jurado

Claudia Quiroz. I.AF., MSc.
Directora

San Juan de Pasto, Diciembre de 2018

Agradecimientos

Extiendo mis agradecimientos a:

Mi directora de tesis Claudia Milena Quiroz Ojeda, por su gran compromiso en compartirme sus conocimientos, guiarme y colaborarme en la culminación del presente trabajo investigativo, gracias por su confianza y amistad.

Los jurado de tesis que aportaron con sus conocimientos para la elaboración de este proyecto de investigación.

La Maestría en Agroforestería Tropical, Universidad de Nariño, por la formación académica brindada.

Grupo de investigación de Sanidad Vegetal GRISAV, Universidad de Nariño, por el apoyo en la elaboración de esta investigación.

Cabildo Indígena de Tuquerres, por permitirme la entrada al territorio y compartir su saber ancestral.

Corporación Técnica Para El Desarrollo Del Pacifico Cortepaz, por el apoyo con los cacao cultores, quienes pusieron los cultivos de cacao a la disposición de la investigación.

Fondo Nacional de Regalías-CIAD, por el apoyo financiero para la realización de la investigación.

A mi familia por su amor y apoyo incondicional.

A todas las personas que con su apoyo y acompañamiento impulsaron la culminación de este proyecto.

Dedicatoria:

A mi madre Amparo

A mi padre Harol Arturo

A mis hijos Nicolas, Camilo y Felipe

Resumen

La moniliasis (*Moniliophthora roreri* Cif.) es la principal problemática fitosanitaria que enfrentan los pequeños cacao cultores en las regiones productoras de Colombia, y que de no ser bien manejada ocasiona pérdidas de hasta un 80% de la producción. Es por eso, que se propuso evaluar un bioinsumo elaborado a partir de extractos de plantas con propiedades antifúngicas, útil para el control de esta enfermedad. La selección de las plantas se hizo desde la validación del conocimiento ancestral del pueblo Pasto, en Tuquerres (Nariño), por medio de consulta de fuentes secundaria y la obtención de información primaria aplicando una entrevista semiestructurada. Las muestras de cacao con la moniliasis se recolectaron en el Consejo Comunitario de las Varas (Tumaco). El aislamiento, identificación y multiplicación de *M. roreri*, y las evaluaciones *in vitro*, se realizaron en el laboratorio de Sanidad vegetal-GRISAV de la Universidad de Nariño. Para las evaluaciones *in vitro* se efectuaron 3 experimentos: primero, evaluación de cada uno de los extractos acuosos (se escogieron las 5 especies con mayor % de reconocimiento para el control de enfermedades causadas por hongos en los cultivos de los Pasto) a 10, 100, 1000, 10000, y 100000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, donde se aplicó un Diseño irrestrictamente al azar (DIA) bifactorial, el factor A correspondió a los extractos vegetales y el factor B a las concentraciones y para comparación de medias se utilizó Tukey al 95% de probabilidad; segundo, evaluación del bioinsumo elaborado a partir de los 3 extractos con mayor eficacia en el control de *M. roreri*, en las mismas dosis anteriores, donde se aplicó un DIA y Tukey al 95%; y tercero, determinación de la Dosis mínima inhibitoria (DMI) del bioinsumo, donde se utilizó un DIA y Duncan al 95% de probabilidad. Para comparación se usó un testigo comercial (oxicloruro de cobre, 10000 mL^{-1}) y un testigo absoluto. Se obtuvo 3 aislamientos correspondientes a *M. roreri*. Se identificaron 20 especies con propiedades antifúngicas utilizadas por los Pasto para el control de enfermedades en los cultivos. De estas se evaluaron *in vitro* *Furcraea* sp., *Tagetes zypaquerensis*, *Lippia origanoides*, *Ambrosia arborescens* y *Brugmansia sanguínea*, resultando *Furcraea* sp., *Tagetes zypaquerensis* y *Lippia origanoides* las más efectivas en la inhibición del crecimiento micelial de *M. roreri*, a la concentración de 100000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, sin diferencias significativas entre ellas. *Furcraea* sp. inhibió el 90% del crecimiento del patógeno y el testigo comercial solo alcanzó el 45%. El bioinsumo se elaboró a partir de la mezcla de los extractos de las especies anteriores. No se encontró diferencias significativas entre las dosis de 100000, 10000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ del bioinsumo y el producto de síntesis química, siendo la inhibición de *M. roreri* de 100%, 96.6%, 90,8%, respectivamente. La DMI del bioinsumo se determinó en 5500 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Se concluyó que el bioinsumo si presentó efecto fungicida significativo sobre el crecimiento *in vitro* de *M. roreri*.

Palabras claves: Plantas promisorias, Actividad antifúngica, Control biológico, MIPE

Abstract

The moniliasis (*Moniliophthora roreri* Cif.) is the main phytosanitary problem that small cocoa farmers faced in the producing regions of Colombia, and can caused loss up to 80% of production if it is not focused correctly. For that reason it was proposed to evaluate a bioinsumption elaborated from plant extracts with antifungal properties, useful for the control of this disease. The selection of the plants was done from the validation of the ancestral knowledge of the Pasto town in Tuquerres (Nariño), by means of consultation of secondary sources and the obtaining of primary information applying a semiestructurad interview. The cocoa samples with the moniliasis were collected at the Community Council of Las Varas (Tumaco). The isolation, identification and multiplication of *M. Roreri*, and *in vitro* evaluations, were carried out in the laboratory of Vegetal Health-GRISAV of the University of Nariño. To the *in vitro* evaluations, 3 experiments were carried out: first, evaluation of each of the aqueous extracts (the 5 species with the highest % recognition were chosen for the control of diseases caused by fungi in the crops) to 10, 100, 1000 , 10000, and 100000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, where a unreservedly design was applied to the Tsar (DIA) bifactorial, the factor A corresponded to the vegetal extracts and the factor B to the concentrations and for comparison of means Tukey was used at 95% of probability. Second, evaluation of the bioinsumption elaborated from the 3 extracts with greater efficacy in the control of *M. Roreri*, in the same previous doses, where one DIA and Tukey was applied to 95%; and third, determination of the minimum inhibitory dose (DMI) of the bioinsumption, where one DIA and Duncan was used at 95% probability. For comparison, a commercial witness was used (copper oxychloride, 10000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) and an absolute witness. Three isolates were obtained corresponding to *M. Roreri*. We identified 20 species with antifungal properties used by the pasture to control disease in the crops. Of these were evaluated *in vitro* *Furcraea* sp., *Tagetes zypaquerensis*, *Lippia origanoides*, *Ambrosia arborescens* and *Brugmansia sanguinea*, resulting *Furcraea* sp., *Tagetes zypaquerensis* and *Lippia origanoides* the most effective in inhibiting growth mycelial *M. Roreri*, at the concentration of 100000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, without significant differences between them. *Furcraea* sp. it inhibited 90% of the pathogen's growth and the commercial witness only reached 45%. The bioinsumption was elaborated from the mixture of the extracts of the previous species. No significant differences were found between the doses of 100000, 10000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ of bioinsumption and chemical synthesis product, with the inhibition of *M. Roreri* of 100%, 96.6%, 90.8%, respectively. The DMI of the bioinsumption was determined at 5500 $\mu\text{g mL}^{-1}$. It was concluded that ioinsumption if it presented significant fungal effect on the *in vitro* growth of *M. Roreri*.

Key words: Promisory plants, antifungal activity, biological control, MIPE

Tabla de contenido

	Pág.
Introducción.....	14
1. Objetivos.....	17
2. Marco teórico.....	18
2.1. Etnobotánica.....	18
2.2. Plantas promisorias.....	18
2.2.1. Plantas promisorias con actividad antifúngica.....	19
2.3. Metabolitos secundarios de las plantas.....	20
2.3.1. Aceites esenciales.....	21
2.3.2. Extractos vegetales.....	22
2.4. Cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.).....	24
2.4.1. Generalidades.....	24
2.4.2. Clasificación taxonómica.....	24
2.4.3. Importancia económica.....	25
2.4.4. Sanidad del cultivo (Enfermedades).....	25
2.5. Moniliasis del cacao (<i>Moniliophthora roreri</i> Cif.).....	26
2.5.1. Etiología.....	27
2.5.2. Clasificación taxonómica.....	27
2.5.3. Morfología.....	28
2.5.4. Ciclo de vida y síntomas de la enfermedad.....	28
2.5.5. Medidas de control.....	29
3. Estado del arte.....	30
4. Metodología.....	32
4.1. Fase uno (de campo).....	32
4.1.1. Localización.....	32
4.1.2. Selección de las especies vegetales con propiedades antifúngica.....	32
4.1.2.1. <i>Recolección de información secundaria</i>	33
4.1.2.2. <i>Aplicación de la entrevista semiestructurada</i>	33
4.1.2.3. <i>Recolección de las especies vegetales seleccionadas para la identificación</i>	

y elaboración de extractos.....	34
4.1.3. Colecta de muestras de cacao afectado por moniliasis.....	35
4.2. Fase dos (laboratorio).....	36
4.2.1. Localización.....	36
4.2.2. Obtención de <i>Moniliophthora roreri</i>	37
4.2.2.1. Aislamiento.....	37
4.2.2.2. Identificación.....	37
4.2.2.3. Purificación.....	38
4.2.3. Identificación de metabolitos secundarios en las especies vegetales seleccionadas para la evaluación <i>in vitro</i>	38
4.2.4. Obtención de los extractos acuosos para las evaluaciones <i>in vitro</i>	38
4.2.5. Evaluación de la capacidad antifúngica de los extractos vegetales sobre el crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Moniliophthora roreri</i>	39
4.2.6. Elaboración del bioinsumo a partir de los extractos vegetales con mayor capacidad antifúngica sobre <i>M. roreri</i> y su evaluación <i>in vitro</i>	42
4.2.6.1. <i>Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)</i>	43
5. Resultados y discusión.....	44
5.1. Selección de las especies vegetales con propiedades antifúngicas.	44
5.1.1. Selección de especies vegetales a partir de la información secundaria.....	44
5.1.2. Aplicación de la entrevista semiestructurada	46
5.1.3. Selección de cinco especies vegetales para evaluar <i>in vitro</i> su capacidad antifúngica.....	53
5.1.3.1. <i>Descripción de las especies priorizadas</i>	54
5.2. Obtención de <i>Moniliophthora roreri</i>	70
5.3. Evaluación de la capacidad antifúngica de los extractos vegetales sobre el crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Moniliophthora roreri</i>	72
5.4. Evaluación de un bioinsumo en su capacidad de inhibir el crecimiento <i>in vitro</i> de <i>M. Roreri</i>	77
5.4.1 Determinación de la DMI (Dosis Mínima Inhibitoria) del bioinsumo.....	82
Conclusiones.....	86
Bibliografía.....	87
Anexos.....	104

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. Enfermedades del cacao (<i>T. cacao</i>).....	26
Tabla 1. Tratamientos para determinar la capacidad antifúngica de los extractos vegetales sobre el crecimiento <i>in vitro</i> de <i>M. roleri</i>	40
Tabla 3. Especies promisorias con potencial para el control de enfermedades en plantas.....	44
Tabla 4. Uso, porcentajes de reconocimiento de las plantas para el control de enfermedades y métodos de preparación.	48
Tabla 5. Especies seleccionadas para evaluar su potencial antifúngico en condiciones <i>in vitro</i> ..	54
Tabla 6. Perfil cromatográfico de metabolitos secundarios de <i>T. zypaquerensis</i>	56
Tabla 7. Perfil cromatográfico de metabolitos secundarios de <i>A. arborescens</i>	59
Tabla 8. Perfil cromatográfico de metabolitos secundarios de <i>Lippia origanoides</i> Kunth.....	62
Tabla 9. Metabolitos secundarios de <i>Furcraea gigantea</i>	65
Tabla 10. Perfil cromatográfico de metabolitos secundarios de <i>Furcraea</i> sp.	66
Tabla 11. Análisis de varianza para la evaluación de la capacidad antifúngica de los extractos vegetales sobre el crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Moniliophthora roleri</i>	69
Tabla 12. Análisis de varianza para la evaluación de la capacidad antifúngica de los extractos vegetales sobre el crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Moniliophthora roleri</i>	73
Tabla 13. Análisis de varianza para la evaluación del efecto del bioinsumo sobre el crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Moniliophthora roleri</i>	78
Tabla 14. Análisis de la varianza del ensayo para determinar la dosis mínima de inhibición a 1500, 2500, 5000 y 7000 $\mu\text{g mL}^{-1}$	82
Tabla 15. Análisis de la varianza del ensayo para determinar la dosis mínima de inhibición a 5500, 6000, 6,500 y 7000 $\mu\text{g mL}^{-1}$	85

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1. Ciclo patológico de <i>M. roreri</i>	29
Figura 2. Identificación en campo y recolección del material vegetal.....	35
Figura 3. Colecta de muestras para el aislamiento de <i>M. roreri</i>	36
Figura 4. Aislamiento de <i>M. roreri</i>	37
Figura 5. Preparación de las dosis de cada extracto a evaluar	38
Figura 6. Preparación del bioinsumo previo a la evaluación.....	42
Figura 1. Aplicación de la entrevista semiestructurada	47
Figura 8. Adquisición del conocimiento y tamaño del predio donde se encuentran las especies seleccionadas, según los entrevistados	51
Figura 9. <i>Tagetes zypaquerensis</i> Bonpl.....	55
Figura 10. <i>Ambrosia arborescens</i> Mill.....	58
Figura 11. <i>Lippia origanoides</i> Kunth.....	60
Figura 12. <i>Furcraea</i> sp.....	65
Figura 13. <i>Brugmansia sanguinea</i> (Ruiz & Pav.) D. Don.....	67
Figura 14. Obtención de cultivos monospóricos de <i>Moniliophthora roreri</i>	70
Figura 15. <i>Moniliophthora roreri</i>	71
Figura 16. Colonia de <i>M. roreri</i>	72
Figura 17. Comparación de medias del efecto de los extractos vegetales sobre el crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Moniliophthora roreri</i>	74
Figura 18. Prueba de Tukey para comparación de medias en la evaluación del efecto del bioinsumo sobre el crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Moniliophthora roreri</i>	79
Figura 19. Efecto del bioinsumo sobre el crecimiento <i>in vitro</i> de <i>M.roreri</i> a concentraciones de 10, 100, 1000, 10000 y 100000 $\mu\text{g mL}^{-1}$	80
Figura 20. Prueba de Tukey para comparación de medias en la evaluación del efecto del bioinsumo sobre el crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Moniliophthora roreri</i> a 1500, 2500, 5000 y 7000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, Oxicloruro de cobre a 10.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ y Testigo absoluto.....	83
Figura 21. Prueba de Tukey para comparación de medias en la evaluación del efecto del bioinsumo sobre el crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Moniliophthora roreri</i> a 5500, 6000, 6500 y 7000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, Oxicloruro de cobre a 10000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ y Testigo absoluto.....	84

Anexos

Pág.

Anexo 1. Ficha de identificación de las especies con propiedades antifúngicas, priorizadas a partir de la información secundaria.....	104
Anexo 2. Entrevista semiestructurada.....	105

Introducción

Desde el comienzo de la historia los pueblos originarios evolucionaron gracias al conocimiento que adquirieron de los recursos naturales, en especial el recurso vegetal existente en su entorno (Casas *et al.*, 2016 y Guerrero, 2008). Según Gómez y Gómez (2006), este conocimiento les permitió autoeficiencia alimentaria, por medio de la utilización de técnicas ancestrales fundamentadas en el conocimiento milenario de la naturaleza aplicada al manejo de los agroecosistemas.

No obstante, el uso de las plantas ha disminuido en su importancia dentro de las comunidades. Al respecto, Altieri y Toledo (2010) indica que en los inicios del siglo XXI ha habido una creciente pérdida del conocimiento tradicional de sociedades nativas y la degradación de hábitats naturales; reflejándose en el caso de la agricultura, con desplazamiento de este conocimiento por la influencia de la revolución verde, representada en prácticas como, el uso excesivo de agroquímicos, el monocultivo y utilización de variedades mejoradas.

En este contexto, la investigación etnobotánica ha adquirido especial relevancia, pues durante este período, algunas revisiones sobre la naturaleza y alcances de la etnobotánica han contribuido a unificar su campo teórico y a resaltar el papel de ésta en la conservación de la biodiversidad y en el desarrollo de las comunidades locales (Bermúdez *et al.*, 2005).

Las plantas en sí mismas constituyen una fuente natural de compuestos químicos denominados metabolitos secundarios, con actividad antimicrobiana. Los metabolitos secundarios desempeñan un papel importante en las interacciones complejas entre las plantas y otros organismos, siendo una de sus principales características la defensa contra patógenos (Barrera y Bautista, 2008). Según Cáceres *et al.*, (2000), la selección de las especies vegetales con potencial biofungicida se debe recopilar basada en la información etnobotánica y el conocimiento popular.

Entre las formas de aprovechamiento de las plantas con potencial fungicida, está la utilización de extractos elaborados a partir de una o varias especies de estas. Al respecto, son muchas las investigaciones que se han realizado sobre el uso de extractos vegetales para el control de

diversos microorganismos fitopatógenos, especialmente en lo que ha hongos se refiere, como se evidenciará a lo largo de esta investigación, dando paso al desarrollo de una nueva alternativa para el uso de las plantas no cultivadas, en una agricultura comercial.

En el caso del cacao, este es un cultivo que ha adquirido importancia en Colombia, recalcando el hecho de que ha estado en la agenda del gobierno de forma permanente, por ser generador de divisas importantes para el país (FEDECACAO, 2010). La producción de cacao para el 2018 fue de 62.000 toneladas, creciendo un 6% con respecto al año 2017, debido en gran parte a los apoyos del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural durante años anteriores en programas de siembra nueva, renovación de cacaotales envejecidos y planes nutricionales, entre otros (Arvelo *et al.*, 2016).

El cacao producido en Colombia ha sido calificado como fino y de aroma, lo cual es muy importante, dado que en este ranking clasifican solo el cinco por ciento del total del cacao que se produce y comercializa en el planeta. Entre los países suramericanos: Ecuador, Perú, Venezuela y Colombia sumados producen el setenta por ciento del este tipo de cacao (Ruiz, 2014).

En el departamento de Nariño se cultivan 14.900 hectáreas de cacao, con una producción de 2.059 toneladas (Arvelo *et al.*, 2016), las cuales se distribuyen en 10 municipios. En estos, el cultivo se presenta como una alternativa de desarrollo ante el aumento de los cultivos de uso ilícito. Como lo es el caso de los municipios de la Costa Nariñense, específicamente Tumaco, el cual es uno de los principales productores de cacao (FEDECACAO, 2014).

El manejo fitosanitario es un aspecto clave en el desarrollo del cultivo, al respecto, la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) es una enfermedad que ataca el fruto del cacao y se considera una de sus principales enfermedades (Rojas & Sacristán, 2013). Según Alarcón *et al.* (2012) y Jaimes y Aránzazu (2010), la incidencia de la moniliasis puede variar entre el 8 y 80%.

En alusión con lo anterior, las prácticas culturales han sido el método más recomendado para el combate de la moniliasis, estas consisten principalmente en retirar los frutos enfermos; además de otras prácticas para dar al cultivo un manejo integral, como son: poda, control de la sombra,

desyerbas, adecuada fertilización y construcción de drenajes (Compañía Nacional de Chocolates, 2011). La aplicación de productos químicos se recomienda únicamente como práctica complementaria a las prácticas culturales en el control de la enfermedad, justificándose así el uso de fungicidas (Ponce, 2015).

Los pesticidas de origen botánico resultan apropiados para la producción de alimentos orgánicos y juegan un papel importante en la producción y protección poscosecha de productos alimenticios en los países en desarrollo, razón por la cual la investigación científica sobre este tipo de productos es cada vez mayor (Gurjar *et al.*, 2012). En concordancia, Tirado *et al.*, (2016) indican que es posible el uso de extractos vegetales como una buena alternativa para el control de *M. royeri* en los cultivos de cacao.

Según Ramírez (2013), el control de la moniliasis mediante el uso de extractos vegetales permitiría a los productores que opten por este tipo de manejo, obtener una mayor producción y si ingresan a mercados especializados, obtener mayor ingreso económico por el aumento en el valor del cacao.

Por todo esto, en el presente trabajo se planteó la evaluación de un bioinsumo elaborado a partir de la mezcla de extractos vegetales hechos de especies con propiedades antifúngicas, útil para el control de la monilliasis, con el fin de proponer una alternativa de manejo de la enfermedad a los productores de cacao, esperando con esto, minimizar el impacto de *M. royeri* sobre el cultivo, repercutir en un aumento de la producción, además de validar el conocimiento tradicional de las plantas usadas en la agricultura por parte del Pueblo Pasto, de donde se tomó prestado el saber sobre las plantas con propiedades antifúngica.

1. Objetivos

1.1. Objetivo general

Evaluar un bioinsumo elaborado a partir de tres extractos vegetales, útil para el control de la Moniliasis (*Moniliophthora roreri* Cif.) en cacao (*Theobroma cacao* L).

1.2. Objetivos específicos

- Seleccionar cinco especies vegetales con propiedades antifúngicas, a partir de su estudio etnobotánico y caracterización fitoquímica, para la elaboración de los extractos.
- Determinar la capacidad antifúngica de los extractos vegetales sobre el crecimiento *in vitro* de *Moniliophthora roreri*.
- Evaluar un bioinsumo elaborado a partir de los extractos vegetales seleccionados con capacidad antifúngica sobre el crecimiento *in vitro* de *Moniliophthora roreri*.

2. Marco teórico

2.1 Etnobotánica

La etnobotánica consiste en estudiar el grado de conocimiento que el hombre y las comunidades han alcanzado sobre el uso de las plantas, siendo está definida como el estudio de las interrelaciones entre los grupos humanos y las plantas (Gómez, 2002; Bermúdez *et al.*, 2005) y teniendo como objetivo, la búsqueda del conocimiento y rescate del saber botánico tradicional, particularmente relacionado al uso de la flora (Zambrano *et al.*, 2015).

Para Pino y Valois (2004), la etnobotánica es la ciencia que investiga la relación entre las plantas y la cultura humana en diferentes ambientes, la cual surge como un instrumento para rescatar tradiciones milenarias sobre los diversos usos que el hombre le ha dado a estas y como alternativa de dar valor agregado a los recursos vegetales. Según Álvarez (2016), dependiendo de la época y del autor; la etnobotánica, una ciencia interdisciplinar que recoge y analiza los usos, conocimientos, costumbres, ritos y creencias que tienen origen en las interacciones hombre-plantas, ha sido definida y enfocada de distintas formas.

Con el paso de los años, el objeto de estudio de la etnobotánica se fue extendiendo a la totalidad de las relaciones ser humano-mundo-vegetal, centrándose, por lo general los estudios etnobotánicos, en aquellos grupos humanos que se relacionan de una manera más estrecha con el medio, es decir, en las poblaciones con escaso desarrollo tecnológico y en las sociedades rurales (Álvarez, 2016).

Según Moncayo (2015), la diversidad biológica de saberes, sabores y usos ha traído consigo un proceso implícito de investigación de las plantas útiles en las comunidades, lo cual, requiere de una búsqueda y recolección de la información, así como de su interpretación, todo desde una perspectiva global que se encuentra implícita en la etnobotánica.

2.2 Plantas promisorias

Las especies vegetales promisorias son especies muchas veces subutilizadas, pero pueden presentar potencial como plantas alimenticias, medicinales, industriales o de usos múltiples. Para

que las especies se consideren promisorias deben cumplir con los siguientes requisitos: fundamentalmente ser nativas de la región, que no hayan sido domesticadas extensivamente por el hombre, ser especies poco conocidas pero con potencialidades económicas a corto, mediano y largo plazo y que cuenten con información científica básica que valide su condición de especies promisorias (Toro, 2009).

El Ministerio de Agricultura de España *et al.* (2012), declaran como especies promisorias las especies nativas actualmente aprovechadas solo por pobladores locales o que fueron usadas durante centenares de años, pero que por dar paso a otros recursos o productos de mayor competitividad comercial a nivel internacional, se han convertido en especies marginadas o infrautilizadas (equivalentes a cultivos promisorios), con la consecuente pérdida de los conocimientos tradicionales asociados a estas especies.

Entre las especies promisorias se incluyen aquellas que son o han sido objeto de uso por su madera, resinas, aceites, frutos, fibras, ornamentales, entre otros, que pueden haber sido comercializadas a nivel muy local y que ofrecen perspectivas interesantes para mejoramiento genético de especies cultivadas o cuyo uso está ampliamente difundido (Álvarez, 2014).

2.2.1 Plantas promisorias con actividad antifúngica.

Las plantas y sus derivados han mostrado efectos controladores contra ácaros, roedores, nematodos, bacterias, virus, hongos e insectos (Grainge y Ahmeds, 1988). Al respecto, Regnault (2004); Obledo *et al.* (2004); Kagale *et al.* (2004) reportaron alrededor de 3000 compuestos naturales mostrando actividad bactericida, fungicida, insecticida, repelente y nematicida.

Estas moléculas que ejercen una acción farmacológica sobre los seres vivos; conocidas como principios activos, pueden ser sustancias simples como alcaloides, o bien mezclas complejas como resinas y aceites esenciales. Los compuestos más comunes son los azúcares y heterósidos, que pueden ser glucósidos y galactósidos; pero también se presentan lípidos, gomas, mucílagos, principios amargos, taninos, bálsamos, oleoresinas, ácidos orgánicos, enzimas y vitaminas; que generalmente son producidos por el metabolismo secundario de las plantas (Ojeda, 2006).

Los productos naturales obtenidos del recurso vegetal pueden llegar a ser fuente de compuestos fungicidas o fungistáticos amigables con el ambiente, comprendiendo que la disposición actual en la agricultura, es la búsqueda de nuevos controladores de las enfermedades en los cultivos, los metabolitos secundarios presentes en los extractos vegetales y aceites esenciales se convierten en una fuente botánica de compuestos alternativos a los fungicidas usados actualmente (Lee *et al.*, 2007; Abad *et al.*, 2007).

El empleo de extractos vegetales para el control de enfermedades en el marco de una agricultura sostenible constituye una alternativa promisorio, debido a su efectividad, bajo costo y no ser contaminantes del ambiente (Celis *et al.*, 2009). Según Celis *et al.* (2009) es necesario desarrollar un sistema de manejo integrado de enfermedades basado en la utilización de productos naturales de plantas, que reduzcan la dependencia de los productos de síntesis química y por tanto produzcan menos contaminación ambiental y mayor calidad en los alimentos agrícolas producidos.

2.3 Metabolitos secundarios de las plantas

Las plantas además del metabolismo primario presente en todos los seres vivos poseen un metabolismo secundario que les permite producir y acumular compuestos de naturaleza química diversa, denominados metabolitos secundarios (García *et al.*, 2009).

Algunos productos del metabolismo secundario tienen funciones ecológicas específicas como atrayentes o repelentes de animales. Muchos son pigmentos que proporcionan color a flores y frutos, jugando un papel esencial en la reproducción atrayendo a insectos polinizadores. Otros compuestos tienen función protectora frente a predadores, actuando como repelentes, proporcionando a la planta sabores amargos, haciéndolas indigestas o venenosas. También intervienen en los mecanismos de defensa de las plantas frente a diferentes patógenos, actuando como pesticidas naturales (García *et al.*, 2009).

Los metabolitos secundarios juegan un papel importante en la resistencia de las plantas contra las plagas y enfermedades, por lo que las investigaciones sobre sus propiedades antimicrobianas permiten descubrir nuevos agentes para el control de fitopatógenos (Kordali *et al.*, 2007; Lee, 2007).

Estos compuestos pueden ser divididos en tres grandes grupos: terpenoides, compuestos fenólicos y alcaloides, en base a sus orígenes sintéticos (López, 2008); su estudio ofrece una fuente importante de agentes antifúngicos que pueden ser desarrollados como productos *per se* o usados como punto de partida para la síntesis de nuevos compuestos (Gullino *et al.*, 2000).

Dentro del ciclo de las enfermedades fungosas, la posibilidad de acción de los metabolitos secundarios de las plantas se puede dar interrumpiendo procesos como: la germinación de esporas, la formación de estructuras de penetración a las células para iniciar la infección, el desarrollo del micelio durante la colonización de los tejidos, la esporulación y el inicio de la enfermedad en las fuentes de inóculo primario como las semillas y frutos (Montes, 2009).

2.3.1 Aceites esenciales.

Los aceites esenciales se definen como mezclas de componentes volátiles, productos del metabolismo secundario de las plantas; con aspecto oleoso, altamente volátiles; solubles en aceites, alcohol, éter de petróleo, tetracloruro de carbono y demás solventes orgánicos; insolubles en agua, inflamables y responsables del aroma de las plantas; contenidos en semillas, glándulas, pelos glandulares, sacos, o venas de diversas piezas de la planta (SENA, 2004).

Son segregados por células especiales que se encuentran tanto en las hojas (menta, albahaca, linalol), como en las flores (lavanda, ylang ylang), la madera (cedro del atlas, sándalo blanco), las raíces (jengibre, valeriana, vetiver) o las semillas (cilantro, anís verde, zanahoria). El tamaño de esas gotas es de unos pocos micrones, motivo por el cual no podemos verlas (Rodríguez *et al.*, 2012).

Los aceites esenciales generalmente son mezclas homogéneas de hasta 100 compuestos químicos orgánicos, provenientes de la familia química de los terpenoides, que bajo condiciones de temperatura ambiental, son líquidos poco densos, pero con mayor viscosidad que el agua, además, constituyen del 0,1 al 1% del peso seco de la planta, son líquidos con escasa solubilidad en agua, pero solubles en alcoholes y en disolventes orgánicos; cuando están frescos, a temperatura ambiente, son incoloros, y al oxidarse se resinifican y toman un color amarillento oscuro (Cadby *et al.*, 2002; López, 2004).

En las plantas, estos son producidos al momento de activarse mecanismos de defensa como respuesta a factores ambientales y ecológicos y presentan roles de defensa, atracción de polinizadores, entre otros (Cadby *et al.*, 2002).

La acción de los aceites esenciales no ha sido dilucidada por completo, pero se postula que pueden causar rompimiento de la membrana a través de los compuestos lipofílicos (Hernández *et al.*, 2007). Los compuestos químicos presentes en los aceites esenciales frecuentemente son activos contra un limitado número de especies microbianas, son productos biodegradables, no tóxicos y pueden ser utilizados en sistemas de manejo integrado de cultivos, por tanto, constituyen una nueva clase de agentes seguros para el control de enfermedades en plantas (Mine *et al.*, 2006).

2.3.2 Extractos vegetales.

Los extractos vegetales se caracterizan por la presencia de determinados metabolitos secundarios los cuales forman parte de las estrategias defensivas de las plantas, y que pueden ser agrupados en compuestos nitrogenados, fenólicos y terpenoides. Dichos compuestos le proporcionan importantes características a los extractos, como son antialimentarios, antivirales, antimicrobianos, repelentes, que permiten su utilización para proteger los cultivos e incrementar la calidad y su producción alimentaría, ya que tienen la propiedad de ser menos tóxicos y más fácilmente degradables (Philogene *et al.*, 2004).

Los extractos de muchas plantas han mostrado tener compuestos de bajo peso molecular que inhiben *in vitro* el crecimiento de hongos; compuestos que pueden estar presentes en los extractos de plantas sanas, como antimicrobianos preformados o fitoanticipinas, o pueden encontrarse en extractos vegetales que han estado expuestos a patógenos o estrés (fitoalexinas) (Osbourn, 1999).

Estos pueden tener hasta más de sesenta componentes y de ellos puede haber varios con propiedades antifúngicas que generalmente están presentes como mezclas de compuestos, y los patógenos pueden ser afectados diferencialmente por los compuestos individuales o por las mezclas en determinadas concentraciones y proporciones (Montes, 2009). Los compuestos al ser extraídos en forma adecuada y administrados en dosis suficientes, producen efectos curativos

que permiten el manejo de microorganismos fitopatógenos. Sobre esto, diversas investigaciones demuestran el potencial de los extractos de plantas en el manejo de problemas fitosanitarios ocasionados por hongos, (Hernández *et ál.*, 2007; Ramírez, 2008; Barrera y Bautista, 2008).

Los extractos vegetales forman una parte muy importante de los sistemas de producción porque benefician al medio ambiente al combatir organismos fitopatógenos, sin recurrir a agentes químicos. Además son el resultado de productos naturales que pueden ser de alguna manera explotados en vía del desarrollo, como nuevos fungicidas para la agricultura y pudiendo ser usados de forma cruda para aplicación directa en los cultivos o alternativamente en forma de mezcla (Lizcano, 2007).

Los extractos de ciertas plantas, al igual que los residuos de alguna de ellas en el suelo, también ejercen un efecto inhibitorio sobre las plántulas de diferentes especies cultivadas, lo que se ha denominado alelopatía (Celis *et al.*, 2009). Diferentes estudios sobre la actividad alelopática contra malezas han demostrado que los agentes alelopáticos afectan el crecimiento de la raíz y el coleóptilo (Valerino *et al.*, 2005), inhiben la germinación de la semilla y el desarrollo del eje radículo-hipocotilar (Alfonso *et al.*, 2005) y sobre plántulas germinadas producen fitotoxicidad en un alto grado (Robayo y Rodríguez, 2006).

Del mismo modo, los extractos de plantas (fitoinsecticidas) constituyen una muy interesante alternativa de control de insectos (Celis *et al.*, 2009). En las plantas, numerosos compuestos químicos se producen naturalmente y funcionan en algún grado como insecticidas, con un rango de efecto protector que va desde repelencia, disuasión de la alimentación y oviposición, hasta toxicidad aguda e interferencia con el crecimiento y desarrollo de los insectos (Melina, 2001).

Los extractos vegetales se obtienen a partir de una solución resultado del tratamiento de plantas o partes de ellas, con un solvente, el cual es adicionalmente concentrado a través de evaporación, destilación o algún otro proceso (European Commission Health & Consumer Protection, 2004). Sin embargo, para su inclusión en los sistemas de producción, Ramírez (2013) indica que la elaboración de los extractos debe estar basada en el uso de técnicas simples y fácilmente reproducibles por los productores, utilizando métodos básicos de prensado, extracción con alcohol, extracción acuosa y fermentación (Ramírez, 2013).

2.4 Cacao (*Theobroma cacao* L.)

2.4.1 Generalidades.

El cacao es un cultivo tropical que se desarrolla en las latitudes comprendidas entre los 10°N y 10°S del ecuador. Está ampliamente extendido en Asia y Oceanía; Centro y sur América y África, con una participación mundial con respecto a la producción del 10%, 17% y 73% respectivamente (Arvelo *et al.*, 2017). La mayor parte del cacao destinado al comercio internacional se cultiva en África, siendo Costa de Marfil el mayor productor y el cacao de Ghana el de mayor calidad. En el continente americano los mayores productores son Brasil y Ecuador, seguidos de República Dominicana, Colombia, Perú, México y Venezuela (ICCO, 2011).

El sistema tradicional de clasificación indica que existen tres tipologías de cultivares a partir de los cuales se desprenden las variedades, híbridos y clones que hoy se siembran a nivel mundial: los denominados criollos, forasteros y trinitarios (IICA, 2017). Los cacaos “criollos” tienen su origen en el norte de Sudamérica y Centro América y se caracterizan por poseer un sabor suave y aromático. Los del tipo “forastero” dominan la producción y el comercio mundial, y son originarios de la cuenca amazónica. Los “trinitarios” son cacaos generados por la hibridación de criollos x forasteros, muy heterogéneos genéticamente y morfológicamente. Su origen se establece en Trinidad y Tobago y se presume que la hibridación fue el resultado de un proceso de cruzamiento espontáneo y natural, aunque, de origen antrópico (ICCO, 2011).

2.4.2 Clasificación taxonómica.

La clasificación taxonómica de *Theobroma cacao* L. se detalla a continuación:

Reino: Plantae

Phylum: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Malvales

Familia: Sterculiaceae

Género: *Theobroma*

Epíteto específico: cacao

Herbario Universidad Nacional de Colombia (2007)

2.4.3 Importancia económica.

La producción mundial de cacao supera las 4.000.000 toneladas de granos y cinco países (Costa de Marfil, Ghana, Indonesia, Nigeria y Camerún) concentran el 84% de la producción mundial (Arvelo *et al.*, 2016), estimándose para el 2018 en 4.6 millones de toneladas (CANACACAO, 2018). En cuanto a la superficie sembrada, África aporta el 64 %, América el 17%, y Asia y Oceanía el 19 % (Arvelo *et al.*, 2016).

En Colombia, el cacao es uno de los principales productos de importancia económica, siendo Santander, Arauca, Antioquia y Huila los principales departamentos productores (Ministerio de Agricultura, 2018). En 2017 la producción de cacao llegó a 60.535 toneladas, con un incremento de 6,6 % frente a la producción del 2016 (Portafolio, 2018). Este incremento se debió a programas de siembra nueva, renovación de cacaotales envejecidos y planes nutricionales, entre otros, por lo que al 2018 se esperó una producción cercana a las 62.000 toneladas y un incremento en las áreas sembradas de cerca del 2% (Ministerio de Agricultura, 2018).

En los últimos años en el país viene creciendo la siembra de clones comerciales, en el que sobresale el CCN51, el cual presenta ventajas comparativas en aspectos como rendimiento, mayor resistencia a enfermedades, precocidad, plantas de baja estatura, buenos índices de mazorca y semillas por mazorca, entre otros (Cardona, 2009). Según Alarcón *et al.*, (2012), el CCN51 cuenta con las características necesarias para su cultivo en las distintas zonas donde se cultiva el cacao.

2.4.4 Sanidad del cultivo (Enfermedades).

Las enfermedades son la principal causa de pérdida en la producción mundial de cacao. Para el adecuado control de enfermedades, los productores deben ser capaces de reconocer los síntomas y manifestaciones de las principales patologías del cultivo, además de comprender las causas y funcionamiento de los organismos que las generan (IICA, 2017).

Las principales enfermedades del cacao se indican en la Tabla 1, clasificadas por el nombre común, el agente etiológico y los órganos afectados por cada patógeno durante la infección (Suárez y Aranzazu, 2010).

Tabla 2. Enfermedades del cacao (*T. cacao*) (Suárez y Aranzazu, 2010).

Nombres comunes	Agente causal	Órganos afectados
Monilia, Moniliasis Pasma, Neva	<i>Moniliophthora roreri</i>	Frutos
Escoba de bruja	<i>Crinipellis perniciososa</i>	Tejido de crecimiento de cogollos, punta de ramas, yemas axiales, hojas, cojines florales, pepinos, mazorcas y flores.
Phytophthora, Mazorca negra	<i>Phytophthora palmivora</i>	Pepinos y mazorcas, hojas, troncos y raíz
Roselinia	<i>Roselinia pepo</i>	Raíces
Ceratocystis	<i>Ceratocystis fimbriata</i>	Tronco cuello de la raíz

2.5 Moniliasis del cacao (*Moniliophthora roreri* Cif.)

La monilia es una de las principales enfermedades que ataca el fruto del cacao en América Latina y el Caribe, afectando a las mazorcas en cualquier estado de desarrollo. La enfermedad está presente en 13 países (Belice, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Honduras, México, Nicaragua, Perú, Panamá, Bolivia y Venezuela) y causa pérdidas estimadas en 80% de la cosecha anual (PROAMAZONIA, 2003).

La moniliasis es causada por el hongo *Moniliophthora roreri*, ataca únicamente las mazorcas o frutos de cacao en cualquier edad, causando pudrición de los granos. Esta enfermedad también es denominada como pudrición acuosa, helada, mancha ceniza o enfermedad de Quevedo (PROAMAZONIA, 2003).

Durante muchos años se afirmó que la moniliasis inició en el año 1914 en Ecuador (Ampuero, 1967; Barros, 1980), pero recientes estudios realizados por Phillips y Aime (2007) mencionan que el origen de esta grave enfermedad se dio en Colombia hacia el año 1800.

2.5.1 Etiología.

Purdy y Schmidt (1996), confirmaron el nombre del hongo *Monilia roreri* Ciferri en honor a J. B. Rorer, pionero en las investigaciones sobre este patógeno el cual taxonómicamente se conoce como *Moniliophthora roreri* (Evans, 1981).

En los estudios sobre este hongo se observó que las esporas no formaban cadenas moniloides típicas del género *Monilia* y las hifas se parecían más a las del grupo basidiomycetes, presentando septos del tipo doliporo, por lo que instauraron el nuevo género *Moniliophthora* para acomodar este patógeno, posteriormente, con el fin de definir la taxonomía del hongo, se comparó a *M. roreri* con otro hongo patógeno del cacao, *Crinipellis perniciosa*, un basidiomycete, encontrando además de afinidades genéticas, varias similitudes en su patogenicidad sobre el hospedero, como alteraciones en el balance hormonal provocando hipertrofia e hiperplasia en el fruto, y ambos casos atacando especies de *Theobroma* spp. y *Herrania* spp. (Evans *et al.*, 2003).

2.5.2 Clasificación taxonómica.

De acuerdo con Aime y Phillips (2005) y Torres de la Cruz (2010), la clasificación taxonómica del hongo es la siguiente:

Dominio: Eucarya

Reino: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Subphylum: Agaricomycotina

Clase: Agaricomycetes

Subclase: Agaricomycetidae

Orden: Agaricales

Familia: Marasmiaceae

Género: *Moniliophthor*

Especie: *Moniliophthora roreri*

2.5.3 Morfología.

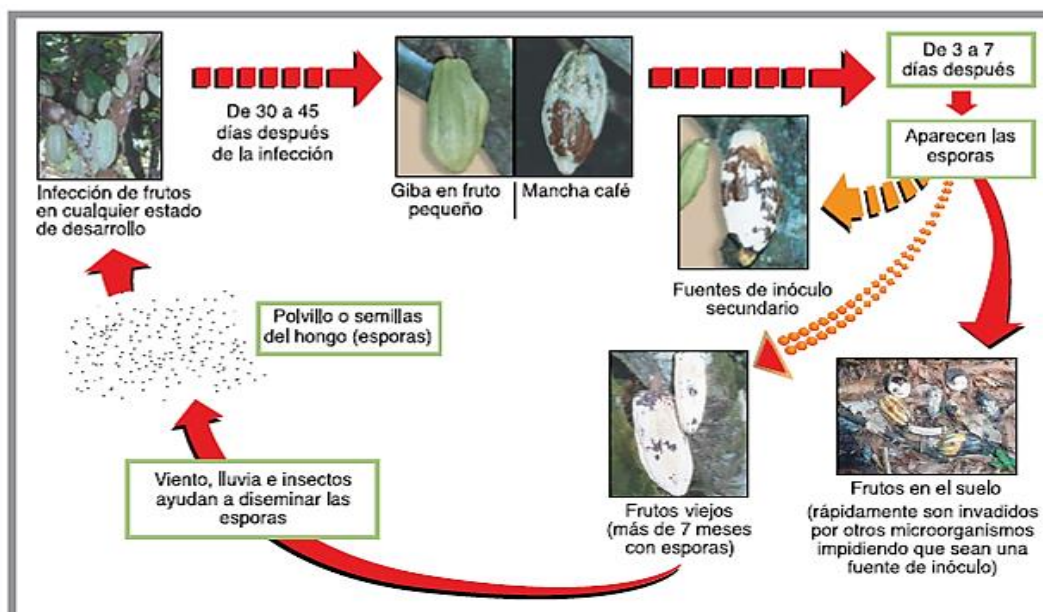
Según Torres de la Cruz (2010), *Moniliophthora roreri* posee un micelio septado con doliporos típicos; sus esporas con maduración basipétala, se producen en cadenas y se desprende fácilmente del micelio, la pared es gruesa y de color amarillo pálido o café cuando se encuentran en masa, además son globosas y elipsoides.

2.5.4 Ciclo de vida y síntomas de la enfermedad.

Las condiciones climáticas y la cantidad de esporas libres son factores determinantes en el ciclo de vida de *M. roreri*. El ciclo comienza con la estación seca, época en la que se encuentran la mayor cantidad de esporas disponibles en el ambiente, sin embargo, para que inicie la infección es necesario que existan condiciones de humedad porque las esporas solo germinan en presencia de una película de agua, con mayor germinación cerca de los 24°C., ocurriendo aproximadamente entre 6 y 8 h. La hifa infectiva del hongo penetra la epidermis del fruto, desde la cual se propaga inter e intracelularmente a los tejidos subepidermales y el exocarpo (Gonzales y Roble, 2014).

La aparición de síntomas depende de la edad del fruto infectado, en los primeros estados de crecimiento del pepino se desarrolla completamente la enfermedad y en frutos con más de 4 meses de edad, la infección generalmente queda limitada a la corteza, presentando solamente los síntomas iniciales y generalmente sin daño interno en las semillas (Rodríguez y Medina, 2005). El ciclo de duración de la enfermedad es de 68 a 74 días, desarrollándose durante este periodo todos los síntomas de la enfermedad (Figura 1) (Gonzales y Roble, 2014).

Figura 2. Ciclo patológico de *M. royeri* (Gonzales y Roble, 2014).



La infección se presenta en la superficie de los frutos y en cualquier fase del desarrollo vegetativo al mes de la inoculación, sin embargo, la susceptibilidad más alta se observa en los primeros estados de desarrollo del fruto (Albuquerque *et al.*, 2005; Suárez y Aranzazu, 2010). El primer síntoma se observa principalmente en la epidermis y se caracteriza por puntos pequeños de apariencia aceitosa, que con el tiempo se unen formando una mancha café con bordes bien definidos, sobre la cual aparece más tarde el micelio y las esporas del hongo. Internamente, las almendras se encuentran fuertemente adheridas y en estado de descomposición más o menos avanzado, por lo que los frutos enfermos generalmente tienden a ser más pesados que los sanos. En mazorcas jóvenes se presentan deformaciones o protuberancias en forma de giba y maduración prematura manifestada por una coloración amarillenta (Suárez y Aranzazu, 2010).

2.5.5 Medidas de control.

Las medidas que se han aplicado para el control de la moniliasis se basan en el control cultural, siendo la principal práctica la remoción de frutos. Esta debe hacerse una vez por semana en los meses de lluvia y cada 7 a 15 días en la época seca o cuando ha bajado la frecuencia de lluvias y volumen de cosecha. La medida tiene como finalidad evitar que el hongo tenga tiempo de formar

las estructuras reproductivas (conidios), que afectarían otros frutos sanos del mismo árbol o de árboles vecinos (PROCACAO, 2017).

El control químico se hace principalmente con productos a base de oxiclورو de cobre. Al respecto, Sánchez *et al.*, (2003), reportaron que entre los resultados más satisfactorios para el control de la moniliasis se obtiene con óxido cuproso (oxiclورو al 35%), sin embargo, indicaron que se debe minimizar los efectos adversos que presentan los productos de síntesis sobre los agroecosistemas y sus pobladores. Para Deberdt *et al.*, (2008), los productos a base de oxiclورو de cobre han mostrado la mayor efectividad en el control de la moniliasis.

El control de la monilia por medio de biofungicidas y productos biológicos con base en microorganismos antagónicos, han sido evaluados, mostrando ser eficientes a nivel experimental (Phillips y Aime, 2007). No obstante, Villamil (2015), determinó que microorganismos antagónicos de *M. roreri* como son diferentes especies de *Trichoderma*, en este caso *T. koninggiopsis* y *T. stromaticum*, al ser aplicados por aspersion sobre lotes de cacao afectados por la moniliasis, reducen la incidencia de la enfermedad e incrementa la producción de mazorcas sanas.

3. Estado del arte

Puenguenan *et al.* (2018), evaluaron el potencial antifúngico de los extractos acuosos de *Gliricidia sepium* y *Capsicum annum* sobre el crecimiento *in vitro* de *M. roreri*, aplicados en concentraciones de 10, 100, 1000, 10000 y 100000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Para comparación utilizaron un control químico (i.a oxiclورو de cobre) y un testigo absoluto. El efecto de los tratamientos se determinó evaluando el porcentaje de inhibición del crecimiento de *M. roreri*. Los autores encontraron que las dos especies disminuyeron el crecimiento del patógeno, sin diferencias significativas a 1000, 10000 y 100000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. *C. annum* y *G. sepium* inhibieron el crecimiento de *M. roreri* en rangos de 76 a 80% y 65,65 a 72,75% respectivamente.

El efecto inhibitorio de extractos obtenidos por destilación de *Origanum vulgare*, *Tradescantia spathacea* y *Zingiber officinale* fue evaluado sobre *M. roreri*. Los extractos se elaboraron de material fresco (300 g L⁻¹ y 600 g L⁻¹) y seco (45 g L⁻¹ y 90 g L⁻¹) cada uno obtenido en dos relaciones agua-alcohol (10:0 y 10:1). Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI)

evaluando crecimiento micelial, conidias totales y conidias germinadas. Los resultados mostraron que las tres plantas poseen metabolitos capaces de inhibir el crecimiento y formación de conidias a concentraciones de 50 y 40% tanto en planta fresca como seca, utilizando para la mejor extracción de sus metabolitos alcohol, su CMI fue de 40%. Para la inhibición total del crecimiento y desarrollo de *M. roreri*, las tres plantas fueron más eficaces cuando los extractos se obtuvieron a partir de 300 g de material fresco L⁻¹ y como solvente agua-alcohol relación 10:1 (Tamayo *et al.*, 2016).

De la Cruz *et al.* (2016) realizaron una evaluación de la actividad antifúngica *in vitro* de extractos acuoso y alcaloideo de semillas, hojas y tallos de *Luzula campestris* (Lc) y *Luzula montanus* (Lm) sobre la inhibición del crecimiento micelial y esporulación de *M. roreri*. La obtención del extracto acuoso de *L. montanus* fue a través de semillas (15 g). Los extractos alcaloideos se obtuvieron para *L. montanus* de semillas y para *L. campestris* de hojas más tallos (50 g de cada material desengrasados). Los autores encontraron que el menor crecimiento micelial de *M. roreri* fue al 25% del extracto acuoso de semillas de Lm y de forma similar con los extractos alcaloideo totales de semillas y hojas más tallos de Lc y Lm, registrando una inhibición total en todas las concentraciones hasta seis días de evaluación. La esporulación sólo fue afectada por el extracto de alcaloides de semillas. La concentración de 10 mg mL⁻¹ presentó la mayor inhibición de la esporulación (83.6%) en semillas de Lm. Los niveles de inhibición del crecimiento micelial con extractos de semillas de Lm fueron de 84.8% a 93.6% (acuoso) y 73.4% a 85.2% (alcaloideo); y en los extractos de alcaloides de hojas más tallos de Lm fue de 61.3% a 79.7% y para Lc de 57.9% a 72.1%.

Ramírez (2013) estudio los extractos obtenidos de: *Pimienta dioica* L., *Zingiber officinale* Roscoe, *Syzygium aromaticum* L, *Origanum vulgare* L., *Tradescantia spathacea* Swartz y *Cinnamomum zeylanicum* Nees para desarrollar y caracterizar extractos vegetales con efectividad en el manejo de *M. roreri*. La investigación incluyo la selección y determinación de la concentración mínima inhibitoria de los extractos, evaluación de los mejores extractos en campo y determinación de los posibles componentes de los extractos que mostraron la mejor efectividad contra el patógeno. Se encontró que todas las plantas evaluadas poseen metabolitos con capacidad para inhibir en mayor o menor grado el desarrollo del hongo y que los hidrolatos de canela, clavo y pimienta fueron los de mayor inhibición, evidenciada en la disminución de la

multiplicación y germinación de las conidias del hongo. Tanto en frutos inoculados como en la plantación comercial con incidencia natural de 69,6% de *M. rozeri*, los hidrolatos de clavo y canela al 20% mostraron la mayor efectividad, permitiendo obtener el 98% de frutos sanos y un incremento en la producción entre un 800 y un 1000%, con respecto al testigo.

4. Metodología

La investigación se ejecutó en dos fases. Una de campo, donde se seleccionó las especies vegetales con propiedades antifúngicas, teniendo como base la recolección de información secundaria, aplicación de una entrevista semiestructurada, se hizo la recolección de muestras y material vegetal durante recorridos de campo con actores claves; y se recolectó muestras de cacao para el aislamiento de *M. rozeri*. La segunda, de laboratorio, donde se realizaron todas las actividades concernientes al aislamiento y purificación de *M. rozeri*, evaluación *in vitro* de los extractos acuosos, evaluación *in vitro* del bioinsumo y realización de perfiles cromatográficos.

4.1 Fase uno (de campo)

4.1.1 Localización.

La selección y colecta de las plantas se efectuó en el Cabildo Indígena de Tuquerres, localizado a una altitud de 1200 a 4200 m, temperatura promedio de 12°C y precipitación de 1300 mm, en las parcialidades de Tuquerres, Imues y Guaitarilla, pertenecientes a el Resguardo de Tuquerres (Cabildo Indígena de Tuquerres, 2009).

La toma de muestras de cacao afectado por la moniliasis se realizó en la vereda Robles, perteneciente al Consejo Comunitario de las Varas, municipio de Tumaco, ubicado en la Costa Pacífica Nariñense, al sur occidente de Colombia, a 1° 11' 26.90" N y 78° 31' 11.78" O (Alcaldía Municipal de Tumaco, 2008).

4.1.2 Selección de las especies vegetales con propiedades antifúngica.

La selección previa de las especies vegetales con propiedades antifúngicas se hizo a partir de: recolección de información secundaria y aplicación de una entrevista semiestructurada, actividades que se describen a continuación:

4.1.2.1 Recolección de información secundaria.

Se realizó con el fin de tener a priori un listado de 20 especies de plantas utilizadas en actividades de producción de cultivos, con las características deseables para la investigación, entre estas: repelentes, alelopáticas, con efecto antimicrobiano, insecticidas y fungistáticas, principalmente. Para la obtención de la información se recurrió a las bases de datos de: Universidad de Nariño, Universidad Mariana, artículos científicos, FAO, ADC (Asociación para el Desarrollo campesino) y publicaciones propias de los Pastos, representadas en la Fundación CHAQUIÑAN y los Cabildos. También se recurrió a la base de datos relacionada con estudios regionales y estudios de Biodiversidad, existentes en CORPONARIÑO y las alcaldías de Tuquerres, Imues y Guaitarilla. Así mismo, se revisó la información existente dentro de la escuela intercultural del pueblo de los Pastos, donde se incluye la Minga de pensamiento, Manejo de chagras, Plan de vida para el resguardo indígena y trabajos de investigación de las comunidades del Resguardo. Con el listado obtenido luego del análisis de la información se procedió a diseñar la entrevista semiestructurada que se utilizó para obtener la información primaria de este trabajo.

4.1.2.2 Aplicación de la entrevista semiestructurada.

La entrevista se centró en la obtención de información de las especies vegetales clasificadas según la etnobotánica en la categoría agrícola, entre las cuales están: especies con propiedades fungicidas y alelopáticas que hacen parte de la unidad de producción (Muñoz y Quiroz, 2005).

En este caso, la entrevista se aplicó para determinar el grado de reconocimiento que tenían los entrevistados sobre el uso de las plantas, previamente seleccionadas, en actividades relacionadas con la sanidad de cultivos. Para a partir de esta información priorizar las 5 especies vegetales con propiedades antifúngicas que posteriormente se evaluarían en laboratorio. La priorización se hizo con base en el siguiente aspecto: porcentaje de reconocimiento del uso de las especies en el

control de enfermedades causadas por hongos en los cultivos. Y para un mayor conocimiento de estas, se hizo una descripción conceptual.

Además, por medio de la entrevista se recolecto información referente a: adquisición del conocimiento sobre el uso de estas plantas; tamaño de los predios donde estas se encuentran, según la percepción de los entrevistados, usos tradicionales dados por las comunidades del Resguardo aparte de fungicida y los métodos de preparación de las plantas para ser utilizadas en las actividades de manejo de los cultivos.

La aplicación de la entrevista se dirigió a informantes clave de la comunidad, designados por el Concejo Mayor (asociación de consulta del cabildo indígena de Tuquerres, el cual está constituido por miembros de las 12 parcialidades presentes en los cinco municipios que hacen parte del Resguardo; este es encargado de tomar decisiones que conciernen a investigaciones, proyectos y planes dentro del resguardo, siendo liderado por el gobernador, el fiscal y los sabedores o mayores). Según Ojeda (2010), se considera como informantes clave a las personas que tienen un reconocimiento dentro de la comunidad, por su conocimiento tradicional del uso de las plantas.

Para poner en consideración las plantas seleccionadas a partir de la información secundaria, se elaboró una ficha de identificación con foto y nombres comunes de estas especies (Anexo1), que en campo, los informantes claves observaron para verificar su presencia. Hecho esto se procedió a realizar la entrevista (Anexo 2). Se efectuaron 4 entrevistas por parcialidad (Imues, Guatarilla y Tuquerres), para un total de 12 entrevistas, aplicadas tanto a hombres como mujeres reconocidos (as) por utilizar especies vegetales promisorias en sus predios. Los resultados de las entrevistas se analizaron por medio del software Microsoft Excel, 2010, por medio de la construcción de histogramas de frecuencia.

4.1.2.3 Recolección de las especies vegetales seleccionadas para la identificación y elaboración de extractos.

Las especies vegetales escogidas fueron recolectadas por medio de recorridos de campo en compañía de los sabedores y entrevistados (Figura 2). De estas se tomaron muestras para su identificación a nivel de género y/o especie, teniendo en cuenta especímenes con flores y frutos,

en buen estado fitosanitario y sin daños mecánicos, los especímenes con flor y/o fruto se colocaron cada uno en bolsa plástica debidamente identificada con el nombre común y con las coordenadas del sitio de donde se recolectaron (Moncayo, 2015), para posteriormente, ser remitidas al herbario PSO de la Universidad de Nariño, donde fueron identificadas. La recolección del material vegetal para la elaboración de los extractos se efectuó según se fueron necesitando en el desarrollo de la investigación, desplazándose junto con los actores claves, hacia aquellos lugares donde se pudieran encontrar.



Figura 2. Identificación en campo y recolección del material vegetal (*Brugmansia sanguinea* (Ruiz & Pav.) D. Don y *Lippia organoides* Kunth) (Muñoz, 2017).

4.1.3 Colecta de muestras de cacao afectado por moniliasis.

La recolección de muestras de cacao afectadas por la moniliasis se efectuó en la finca Guayaquil, ubicada en la vereda San Luis Robles y propiedad del señor Ruben Lasso, miembro de la Corporación Técnica Para El Desarrollo Del Pacífico Cortepaz, entidad que participó en el proyecto poniendo a disposición las plantaciones de cacao para la colecta del material vegetal (Figura 3). Para la colecta se tuvo en cuenta aquellas que presentaban síntomas evidentes de la enfermedad (gibas, mancha de color café oscuro y presencia de micelio en la superficie), sin sobrepasar una afectación de 60% del fruto.

Las mazorcas enfermas se almacenaron por separado en bolsas de papel y se depositaron en una nevera portátil para facilitar su transporte (Figura 3). Todas las muestras se etiquetaron con

información correspondiente al nombre de la finca, fecha de recolección y la localidad, de acuerdo a Torres de la Cruz (2010).



Figura 3. Colecta de muestras para el aislamiento de *M. royeri* (Muñoz, 2017).

4.2 Fase dos (laboratorio)

4.2.1 Localización.

El aislamiento y purificación de *M. royeri*, la evaluación *in vitro* de los extractos vegetales y la evaluación *in vitro* del bioinsumo, se realizaron en el laboratorio de sanidad vegetal, asignado al Grupo de Investigación en Sanidad Vegetal-GRISAV, de la Universidad de Nariño, sede Torobajo, ubicada a una altitud de 2489 m y en las coordenadas 1° 14' 3'' LN y 77°17'7'' LO (Álvarez *et al.*, 2016). La identificación de los metabolitos secundarios, por medio del perfil cromatográfico, se realizó en los laboratorios especializados de la misma universidad.

4.2.2 Obtención de *Moniliophthora royeri*.

4.2.2.1 Aislamiento.

Para el procesamiento de las muestras se siguió el procedimiento descrito por Evans (1981) y Arbeláez (2010), en el cual cada mazorca se lavó con agua y jabón, luego se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 2,5% durante 2 min, se lavaron con agua destilada estéril por 2 min y se

secaron con toallas de papel para retirar el exceso de humedad. De cada mazorca tratada se cortó parte de la epidermis y del interior del fruto para obtener trozos de tejido de 0.5 cm², los cuales se sembraron en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA), acidificado con ácido láctico al 25% (10 ml/L), tres por caja Petri (Figura 4) (Tamayo *et al.*, 2016). Terminada la siembra, los cultivos se incubaron a temperatura de 25°C durante 16 días (Arbeláez, 2010), y se observaron periódicamente para descartar unidades que estuvieran contaminadas.



Figura 4. Aislamiento de *M. royeri* (Muñoz, 2017).

4.2.2.2 Identificación.

En la identificación del hongo, se tuvieron en cuenta características macroscópicas y microscópicas (color, forma, textura de la colonia; morfología de las conidias y tipo de estructura reproductiva del hongo observado al microscopio) (Castaño y del Rio, 1997). Para la observación, se tomó micelio y esporas de las cepas, se depositaron en una lámina porta objetos, conteniendo una gota de azul de laftofenol y se llevaron a observación al microscopio en un aumento de 40X (Castaño y del Rio, 1997).

4.2.2.3 Purificación.

Una vez identificado el patógeno de interés se procedió a la obtención de cultivos puros, tomando con un asa de punta recta esterilizada al calor micelio de la colonia de la cepa a

purificar y colocándolo en el centro de las cajas de Petri con medio de cultivo PDA (Papa Dextrosa Agar). Las cajas selladas y marcadas se pusieron a incubar por 16 días, a 25°C, en condiciones de oscuridad (Arbeláez, 2010). Periodo después del cual se verificó nuevamente la presencia de *M. royeri*. Este procedimiento se realizó hasta obtener aislamientos totalmente puros, con los cuales se realizó más adelante los ensayos *in vitro*.

4.2.3 Identificación de metabolitos secundarios en las especies vegetales seleccionadas para la evaluación *in vitro*.

La identificación y cuantificación de los metabolitos secundarios presentes en las especies vegetales priorizadas en la investigación para evaluarse *in vitro*, se hizo en aceites esenciales y/o extractos acuosos, para esto, las muestras vegetales fueron remitidas a la sección de laboratorios especializados de la Universidad de Nariño. El análisis se hizo utilizando un cromatograma de gases masa, en una columna SHXRI-5MS (Shimadzu, 30m x 0,25mm y df 0,25 μ m), modo split/splitless a 250°C y relación split 1:50, la cual determina a través del método de barrido los ingredientes que se encuentran en las plantas (Álvarez y Delgado, 2010).

4.2.4 Obtención de los extractos acuosos para las evaluaciones *in vitro*.

Los extractos acuosos se prepararon utilizando material vegetal fresco de cada una de las especies a evaluar, utilizándose las partes recomendadas por los actores clave, según la especie. Previo a la extracción, los materiales vegetales se lavaron y se secaron a temperatura ambiente con el fin de no alterar los contenidos fitoquímicos de cada especie. Los extractos se obtuvieron mediante el método de percolación (Lopez *et al.*, 2006), para esto se tomaron 100 g del material molido, se lo humedeció con 1000 ml de solvente (agua destilada estéril), se licuó hasta que el material estuviera lo más disuelto posible y así extraer la mayor cantidad de metabolitos secundarios, luego la solución se pasó por un filtro para separar el extracto acuoso de los residuos sólidos vegetales que pudieran quedar, para finalmente obtener una solución madre de 100000 μ g mL⁻¹ a partir de la cual se prepararon las concentraciones a evaluar. Los extractos obtenidos se conservaron en bolsas de aluminio a 0°C para su posterior utilización.

4.2.5 Evaluación de la capacidad antifúngica de los extractos vegetales sobre el crecimiento *in vitro* de *Moniliophthora roreri*.

Los ensayos *in vitro* se realizaron utilizando el método de medio envenenado de acuerdo a Ramírez *et al.* (2010), donde, cada extracto de las plantas en estudio se adicionó de manera individual en diferentes concentraciones al medio de cultivo Agar Malta, previamente esterilizado en autoclave (a 120°C, 20 psi, por 15 min); en este caso, se agregó 1ml de cada concentración por extracto al momento de servir el medio a la caja Petri y se dejó solidificar.

La preparación de la dosificación de los extractos se realizó con agua destilada estéril como solvente y mediante la ecuación de balance de masas ($C_1 \times C_2 = V_1 \times V_2$), se calculó la cantidad de extracto a utilizar en cada concentración, las cuales fueron: 10, 100, 1000, 10000, 100000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Ramírez *et al.*, 2010); partiendo de la solución madre a 100000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Figura 5).



Figura 5. Preparación de las dosis de cada extracto a evaluar (*Lippia origanoides Kunth*) (Muñoz, 2017).

Posteriormente se inoculó el hongo, la muestra consistió en un disco de 1.1 cm de diámetro de la cepa de *M. roreri*, depositado en el centro de las cajas Petri. Los cultivos se mantuvieron en una incubadora (Termo 2500) bajo condiciones controladas de 25 °C y oscuridad, durante el tiempo que duró la evaluación. Para comparación se establecieron dos testigos, uno correspondiente al

cultivo del patógeno sin tratamiento y el otro, al testigo comercial (i.a oxiclórico de cobre, 10000 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

La actividad antifúngica de los extractos se evaluó mediante el cálculo del porcentaje de inhibición de *M. roleri* bajo el efecto de los diferentes tratamientos; partiendo inicialmente de la medición del porcentaje de crecimiento de la colonia durante el tiempo de evaluación, teniendo en cuenta la relación propuesta por Riveros *et al.* (2003).

$$\text{PC} = \text{DMCM} - 1.1 / \text{DMCA} \times 100$$

$$\% \text{ de inhibición} = 100 - \text{PC}$$

Donde:

PC = % de crecimiento

DMCM = diámetro medio de la colonia creciendo en tratamiento

1,1 cm = diámetro del cilindro con micelio

DMCA = diámetro medio de la colonia sin tratamiento

El crecimiento micelial (cm), medido en dos ejes (horizontal y vertical), se evaluó cada 72 horas con ayuda de un vernier digital, hasta el día 21, incubado a temperatura promedio de 25 °C +/- 2 °C (Álvarez y Delgado, 2010).

Para la evaluación del ensayo se utilizó un diseño irrestrictamente al azar (DIA.), en arreglo bifactorial, donde el factor A correspondió a los extractos vegetales y el factor B a las concentraciones, con 27 tratamientos y cuatro repeticiones por tratamiento, para un total de 108 unidades experimentales. La unidad experimental correspondió a una caja Petri. Los tratamientos se pueden observar en la Tabla 2.

Tabla 3. Tratamientos para determinar la capacidad antifúngica de los extractos vegetales sobre el crecimiento *in vitro* de *M. roleri* (Muñoz, 2017).

Trat.	Extracto vegetal	Concentración $\mu\text{g mL}^{-1}$
1	<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.	10

2		100
3		1000
4		10000
5		100000
6	<i>Brugmansia sanguínea</i> (Ruiz & Pav.) D. Don.	10
7		100
8		1000
9		10000
10		100000
11	<i>Furcraea</i> sp.	10
12		100
13		1000
14		10000
15		100000
16	<i>Tagetes zypaquerensis</i> Bonpl.	10
17		100
18		1000
19		10000
20		100000
21	<i>Lippia origanoides</i> Kunth.	10
22		100
23		1000
24		10000
25		100000
26	Testigo comercial (oxicloruro de cobre)	10.000
27	Testigo absoluto (medio sin enmendar)	0

Los datos obtenidos de medir el porcentaje de inhibición fueron normalizados mediante ($\text{ArcoSen}\sqrt{\%}$) y sometidos a un análisis de varianza ($p \leq 0,05$). La ANOVA se realizó por cada

extracto y por cada rango de concentración. Para comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey a 95 % de probabilidad, utilizando el programa estadístico SAS.

4.2.6 Elaboración del bioinsumo a partir de los extractos vegetales con mayor capacidad antifúngica sobre *M. roreri* y su evaluación *in vitro*.

De los cinco extractos acuosos evaluados en la fase anterior se escogieron tres para la elaboración del bioinsumo (Figura 6). Se tuvieron en cuenta aquellos que resultaron ser más eficaces en inhibir el crecimiento *in vitro* de *M. roreri*. La elaboración del bioinsumo se basó en las concentraciones de cada extracto que resultaron más eficientes en disminuir el desarrollo del patógeno.



Figura 6. Preparación del bioinsumo previo a la evaluación (Muñoz, 2017).

Para la valoración del bioinsumo también se usó el método de medio envenenado (Ramírez *et al.*, 2010), para esto se prepararon concentraciones a 10, 100, 1000, 10.000 y 100.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, de las cuales se aplicó 1 ml al momento de servir a las cajas Petri el medio de cultivo Agar Extracto de Malta, previamente esterilizado. Una vez solidificado el medio, se sembró el patógeno, utilizando discos de 1,1 cm de diámetro impregnados de *M. roreri*. Para comparación se utilizaron dos testigos, uno correspondiente al cultivo del patógeno sin tratamiento y el otro, a

la aplicación de un producto químico (i.a oxiclورو de cobre, 10000 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Por tratamiento se hicieron 4 repeticiones, para un total de 28 unidades experimentales, siendo la unidad experimental una caja Petri.

La actividad antifúngica del bioinsumo se evaluó mediante el cálculo del porcentaje de inhibición de *M. royeri* bajo el efecto de los diferentes tratamientos, partiendo inicialmente de la medición del porcentaje de crecimiento de la colonia durante el tiempo de evaluación, teniendo en cuenta la relación propuesta por Riveros *et al.* (2003) indicada en el ensayo anterior.

El crecimiento micelial (cm), medido en dos ejes (horizontal y vertical), se evaluó cada 72 horas con ayuda de un vernier digital, hasta el día 21, incubado los cultivos a temperatura promedio de 25 °C +/- 2 °C (Álvarez y Delgado, 2010).

Este ensayo se evaluó bajo un diseño irrestrictamente al azar (D.I.A.), con 7 tratamientos y cuatro repeticiones, para un total de 28 unidades experimentales. La unidad experimental correspondió a una caja Petri.

Los datos obtenidos de la medición del porcentaje de inhibición de *M. royeri*, fueron normalizados mediante ($\text{ArcoSen}\sqrt{\%}$) y sometidos a un análisis de varianza ($p \leq 0,05$). Esta ANOVA se realizó por cada rango de evaluación (concentraciones del bioinsumo). Para comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey a 95 % de probabilidad, utilizando el programa estadístico SAS.

4.2.6.1 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (DMI).

A partir del primer rango de dosis evaluadas del bioinsumo (ensayo 1), se realizó dos ensayos más para encontrar la concentración mínima inhibitoria (CMI); definida como la concentración más baja de un producto restrictivo capaz de inhibir el crecimiento visible del microorganismo (95%) después de un periodo de evaluación de 192 horas (Ramírez, 2013; Álvarez y Delgado, 2010). Los datos obtenidos de la medición del porcentaje de inhibición de *M. royeri*, fueron normalizados mediante ($\text{ArcoSen}\sqrt{\%}$) y sometidos a un análisis de varianza ($p \leq 0,05$). Esta ANOVA se realizó por cada rango de evaluación (concentraciones del bioinsumo). Al encontrar

diferencias significativas se procedió a realizar una comparación de medias, mediante prueba de Duncan a 95% de probabilidad, utilizando el paquete estadístico InfoStat.

5. Resultados y discusión

5.1 Selección de las especies vegetales con propiedades antifúngicas

5.1.1 Selección de especies vegetales a partir de la información secundaria.

Las 20 especies vegetales seleccionadas por ser utilizadas en actividades relacionadas con la agricultura de los Pastos, se indican en la Tabla 3. Las plantas se escogieron por su relación en usos como: insecticidas, fungicidas, nematocidas, plantas trampa y preparación de abonos orgánicos. *Allium sativum*, *Capsicum* sp., *Ambrosia arborescens*, *Clibadium glomeratum*, *Dysphania ambrosioides*, *Nicotiana tabacum* y *Bocconia frutescens* se utilizan para el control de insectos. *Allium sativum*, *Clibadium glomeratum*, *Brugmansia sanguínea*, *Nicandra physalodes*, *Ricinus communis*, *Cymbopogon citratus*, *Lippia origanoides*, *Bidens pilosa*, *Furcraea* sp., *Tagetes zypaquerensi* y *Nicotiana tabacum* son reconocidas por sus propiedades fungicidas. *Ambrosia arborescens*, *Equisetum arvense*, *Urtica dioica* y *Dysphania ambrosioides*, se usan para la preparación de abonos orgánicos. Las especies *Brugmansia sanguínea*, *Brugmansia arbórea*, *Tagetes zypaquerensis*, *Calendula officinalis* y *Ruta graveolens*, generalmente se reportan como plantas trampas. *Ricinus communis* es asociada al control de nematodos.

Tabla 4. Especies promisorias con potencial para el control de enfermedades en plantas (Muñoz, 2017).

No	Nombre común	Familia	Nombre científico
1	Ajo	<i>Alliaceae</i>	<i>Allium sativum</i> L.
2	Marco o altamisa	<i>Asteraceae</i>	<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.
3	Ají	<i>Solanaceae</i>	<i>Capsicum</i> sp.
4	Barbasco de zanja	<i>Asteraceae</i>	<i>Clibadium glomeratum</i> Greenm.
5	Borrachero rojo	<i>Solanaceae</i>	<i>Brugmansia anguínea</i> (Ruiz & Pav.) D. Don.

6	Borrachero blanco	<i>Solanaceae</i>	<i>Brugmansia arborea</i> (L.) Lagerh.
7	Caléndula	<i>Asteraceae</i>	<i>Calendula officinalis</i> L.
8	Chamico o Manzana del Perú	<i>Solanaceae</i>	<i>Nicandra physalodes</i> (L.) Gaertn
9	Cola de caballo	<i>Equisetaceae</i>	<i>Equisetum arvense</i> L.
10	Fique	<i>Agavaceae</i>	<i>Furcraea</i> sp.
11	Gallinazo	<i>Asteraceae</i>	<i>Tagetes zypaquerensis</i> Bonpl.
12	Iguerilla	<i>Euphorbiaceae</i>	<i>Ricinus communis</i> L.
13	Limoncillo	<i>Poaceae</i>	<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf
14	Oregano de monte	<i>Verbenaceae</i>	<i>Lippia origanoides</i> Kunth
15	Ortiga	<i>Urticaceae</i>	<i>Urtica dioica</i> L.
16	Papunga o pega pega	<i>Asteraceae</i>	<i>Bidens pilosa</i> L.
17	Paico	<i>Amaranthaceae</i>	<i>Dysphania ambrosioides</i> (L.)
18	Ruda	<i>Rutaceae</i>	<i>Ruta graveolens</i> L.
19	Tabaco	<i>Solanaceae</i>	<i>Nicotiana tabacum</i> L.
20	Albarracín	<i>Papaveraceae</i>	<i>Bocconia frutescens</i> L.

Especies como *Capsicum annum*, *Allium sativum*, *Dysphania ambrosioides*, *Calendula officinalis*, *Equisetum arvense*, *Ambrosia arborescens* y *Ruta graveolens*, se encuentran reportadas como plantas con propiedades antibacterianas, antifúngicas, e insecticidas (Cardenas, 2014). *Capsicum* sp. y *Nicotiana tabacum* son utilizados por su efecto insecticida (Cabrera *et al.*, 2016). Y *Ricinus communis* y *Nicotiana tabacum* tienen propiedades antifúngicas y por eso pueden ser utilizadas para el control de enfermedades causadas por hongos en cultivos (USAID, 2010). Se puede observar que lo anterior coincide con los resultados encontrados en esta investigación, puesto que las propiedades asociadas a las especies mencionadas también se reconocen en el pueblo de los Pastos.

El ajo (*Allium sativum*), Pacunga (*Bidens pilosa*), cola de caballo (*Equisetum arvense*), higuera (*Ricinus communis*), ortiga (*Urtica dioica*), son plantas utilizadas en la preparación de purines para el control de enfermedades en los cultivos (ADC *et al.*, 2012b). Información que coincide

con la reportada en este trabajo, donde entre los usos dados a las especies *Equisetum arvense* y *Urtica dioica* está la de preparación de abonos orgánicos.

Ojeda (2006) en su estudio sobre medicina tradicional en el resguardo indígena de Panan, municipio de Cumbal (N), identifico a *Calendula officinalis*, *Ambrosia arborescens*, *Lippia sp.*, *Bocconia frutescens*, *Ruta graveolens*, *Urtica dioica*, *Bidens pilosa*, *Equisetum giganteum*, y otras, entre las plantas que hacen parte del Resguardo, ya sea silvestres o cultivadas y que son utilizadas para sanar principalmente, aunque, también las relaciona como plantas atraedoras o repelentes de animales e insectos.

Arboleda *et al.* (2012) evaluaron extractos de raíces, tallos, hojas y frutos de higuierilla (*Ricinus communis*) en condiciones *in vitro* para el control del nematodo barrenador (*Radopholus similis*). Ellos encontraron que los extractos a la concentración del 100% tuvieron un efecto nematocida entre 73 y 89%, debido a la presencia de una albúmina, probablemente ricina, que influyó en la mortalidad mayor de *R. similis*. Información que corrobora las propiedades nematocidas atribuidas a *Ricinus communis*.

Entre las plantas que “sanar” de la Costa Pacífica Nariñense, están *Urtica dioica*, *Capsicum annum*, *Ambrosia cumanensis*, *Cymbopogon citratus*, *Tagetes patula*, *Brugmansia sanguínea*, *Origanum vulgare*, *Chenopodium ambrosioides* o *Dysphania ambrosioides*, *Nicotiana tabacum*, *Ricinus communis*, *Ruta graveolens* y *Furcraea gigantea* (SENA, 2005). Lo que evidencia que varias de las especies seleccionadas en esta investigación (13), debido a sus propiedades curativas, también son utilizadas por grupos étnicos de diferentes territorios.

5.1.2 Aplicación de la entrevista semiestructurada.

La entrevista fue aplicada a 12 personas entre sabedores locales o conocedores tradicionales, quienes se caracterizan por su conocimiento ancestral indígena, trabajo en producción orgánica y son reconocidos dentro del resguardo como sabedores del uso de la plantas (Figura 7).



Figura 2. Aplicación de la entrevista semiestructurada (Muñoz, 2017).

Se encontró que todas las especies sometidas a valoración son reconocidas en mayor o menor grado por ser de uso agrícola en la elaboración de insecticidas, fungicidas, purines, fertilizantes, como plantas trampa y repelentes, y para control de malezas (Tabla 4). Entre estas, *Ambrosia arborescens* y *Furcraea* sp., tuvieron un reconocimiento del 92% de los participantes, seguidas por *Furcraea* sp. (83%), *Tagetes zypaquerensis* y *Brugmansia anguinea* con 75%, *Brugmansia anguinea* (67%), *Nicotiana tabacum* y *Capsicum* sp. con 58%, el resto de las especies fueron reconocidas solo por la mitad o menos de los entrevistados (Tabla 4).

Así mismo se determinó, que el método más utilizado para la preparación de insecticidas, fungicidas, purines, fertilizantes, es el macerado de las partes de las plantas, generalmente tallos y hojas, que después es adicionado a las diferentes preparaciones, o mezclado con agua, para su utilización. En la elaboración de fungicidas se encontró que después de maceradas las plantas y mezcladas con agua, la preparación se deja fermentar, como ocurre en el uso de *Brugmansia anguinea*, *Brugmansia arborea*, *Furcraea* sp. y *Lippia origanoides*. Otros métodos de preparación encontrados fueron los extractos, zumos y aceite, en el caso de *Ricinus communis*.

Tabla 4. Usos, Porcentaje de reconocimiento de las plantas para el control de enfermedades y métodos de preparación (Muñoz, 2017).

No	Nombre común	Nombre científico	Usos	Porcentaje de reconocimiento de las plantas para el control de enfermedades	Métodos de preparación
1	Ajo	<i>Allium sativum</i> L.	Insecticida	50	Macerado
2	Marco altamisa	o <i>Ambrosia arborescens</i> Mill.	Repelente Fungicida Abonos orgánicos	91,7	Macerado
3	Ají	<i>Capsicum</i> sp.	Insecticida Repelente	58,3	Macerado
4	Barbasco de zanja	<i>Clibadium glomeratum</i> Greenm.	Insecticida Fungicida	50	Macerado
5	Borrachero rojo	<i>Brugmansia anguinea</i> (Ruiz & Pav.) D. Don	Plantas trampa Fungicida	75	Macerado y fermentado
6	Borrachero blanco	<i>Brugmansia arborea</i> (L.) Lagerh.	Plantas trampa Fungicida	66,7	Macerado y fermentado
7	Caléndula	<i>Calendula officinalis</i> L.	Plantas trampa	41,7	
8	Chamico o Manzana del Perú	o <i>Nicandra physalodes</i> Gaertn	(L.) Fungicida	33,3	Macerado
9	Cola de caballo	de <i>Equisetum arvense</i> L.	Purines	50	Extracto mezclado con otras plantas
10	Fique	<i>Furcraea</i> sp.	Fungicida	91,7	Fermentado
11	Gallinazo	<i>Tagetes zypaquerensis</i> Bonpl.	Fungicida Plantas trampa	75	Macerado
12	Iguerilla	<i>Ricinus communis</i> L.	Fungicida Insecticida	33	Macerado y en aceite
13	Limonsillo	<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf	Fungicida	41,7	Macerado

14	Orégano de monte	<i>Lippia origanoides</i> Kunth	Fungicida	83,3	Macerado y fermentado
15	Ortiga	<i>Urtica dioica</i> L.	Purines Fertilizantes	33,3	Extracto mezclado con otras plantas
16	Papunga o pega pega	<i>Bidens pilosa</i> L.	Fungicida	50	Zumo
17	Paico	<i>Dysphania ambrosioides</i> (L.)	Repelente Insecticida Purines	41,7	Zumo Extracto mezclado con otras plantas
18	Ruda	<i>Ruta graveolens</i> L.	Plantas trampa Purines	50	Extracto mezclado con otras plantas
19	Tabaco	<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Insecticida Fungicida Herbicida	58,3	Extracto
20	Albarracín	<i>Bocconia frutescens</i> L.	Insecticida	25	Macerado

La ADC *et al.*, (2012b) reporta que *Capsicum* sp., *Allium sativum*, *Urtica dioica*, *Clibadium glomeratum*, *Brugmansia* sp., *Furcraea* sp., *Ambrosia arborescens*, *Calendula officinalis* y *Ruta graveolens*, son plantas utilizadas por el pueblo de los Pastos en la preparación de purines para el control de plagas en los cultivos. Similar a los resultados encontrados en esta investigación, donde especies como *Allium sativum* L., *Capsicum* sp., *Clibadium glomeratum* Greenm., son reconocidas por tener propiedades insecticidas; así mismo, el uso de la ruda y la caléndula distinguidas en menor grado para la preparación de purines.

Igualmente, *Tagetes zypaquerensis*, *Ambrosia arborescens*, *Equisetum arvense*, *Urtica dioica*, *Bocconia frutescens* y *Brugmansia* sp., se identifican como especies medicinales silvestres promisorias, en el resguardo indígena el Gran Mallama, el territorio indígena del pueblo Kofan y en el área única Azufral-Chaitan, en donde tienen varias utilidades: medicinales para el ser humano y los animales, mágico-religioso, forraje (CORPONARIÑO, 2010).

Para el control de enfermedades, los Pastos identifican el uso de *Bidens pilosa*, *Equisetum arvense*, *Ricinus communis*, *Eucalyptus globulus*, *Laurus nobilis*, *chamaemelum nobile*, *Carica papaya*, *Aloe vera* y *Taraxacum officinale*, las cuales son usadas en diferentes tipos de preparación (macerados y cocinado de las partes de las plantas) para controlar la gota, antracnosis, nematodos, mildes vellosos, mildes polvosos y royas (ADC *et al.*, 2012b). Además la higuierilla y la ortiga son parte de los materiales para preparar biofertilizantes (ADC *et al.*, 2012b). Similar con *Bidens pilosa* L. y la *Ricinus communis* L. que también se reconocen como plantas con propiedades antifúngicas para el manejo de los cultivos; y con la ortiga que aunque solo la mitad de los entrevistados la relacionan con la agricultura, esta relación es con la elaboración de biofertilizantes.

Rodríguez y Nieto (1997), se refieren al ajo (*Allium sativum*), ají (*Capsicum frutescens*), higuierilla (*Ricinus comunis*), nim (*Azadirachta indica*) y paraíso (*Melia azedarach*), como plantas que sirven de materia prima para la elaboración de insecticidas. Con respecto a *Allium sativum* L., *Capsicum* sp. y *Ricinus comunis*, en el pueblo pasto también son utilizadas para esos fines.

Las plantas o sus derivados también pueden ser utilizados para el control de arvenses. En este caso, se encontró que el extracto de *Nicotiana tabacum*, una especie reconocida por su uso en la agricultura como herbicida. En referencia a esto, Celis *et al.*, (2009), reportaron varios estudios donde se muestra que los extractos de plantas ejercen un efecto inhibitorio en la germinación de las semillas, disminución en la longitud radical y causan retardo del crecimiento, debido su efecto alelopático detrimental sobre la especie receptora, que serían en este caso las arvenses.

La entrevista también permitió obtener información relacionada con la adquisición del conocimiento sobre el uso de las plantas en la agricultura y el tamaño de los predios donde se encuentran las especies, según la percepción de los entrevistados (Figura 8).

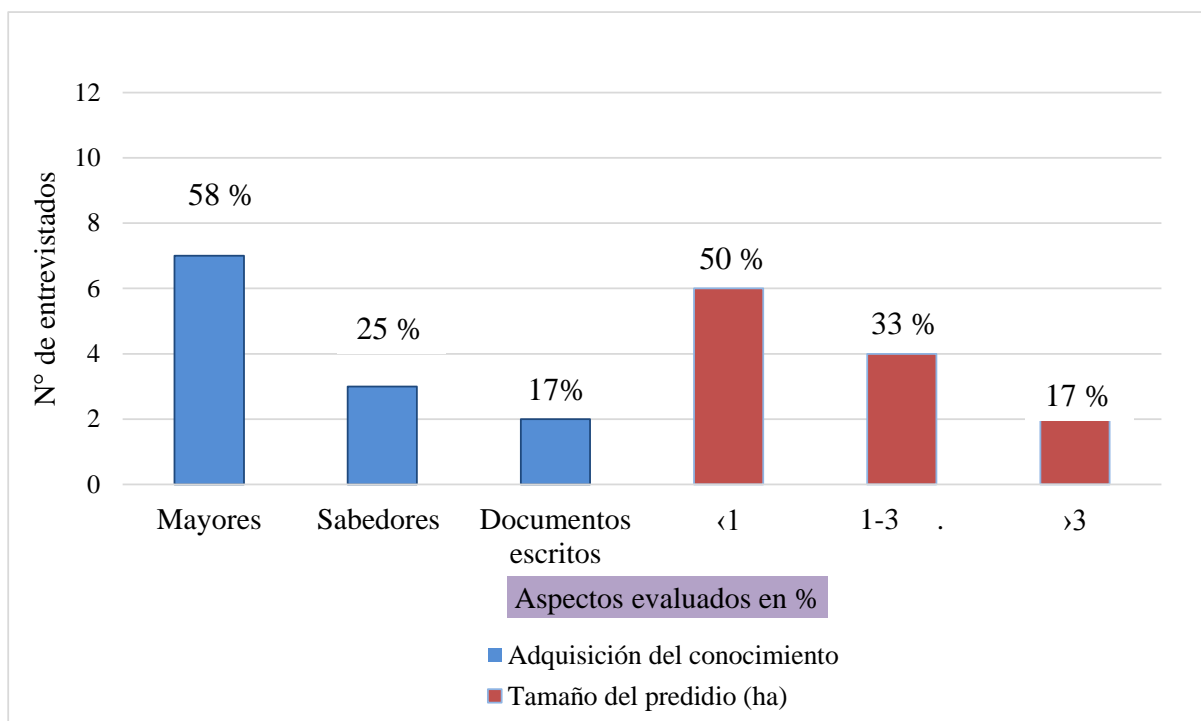


Figura 8. Adquisición del conocimiento y tamaño del predio donde se encuentran las especies seleccionadas, según los entrevistados (Muñoz, 2017).

En cuanto a la adquisición del conocimiento, se encontró que el 58% de los entrevistados obtuvieron el conocimiento sobre las propiedades, aplicaciones y formas de uso de las plantas, a través de la comunicación oral con sus mayores (Figura 8), quienes se identifican como aquellas personas entradas en años, que se han mantenido en los territorios del Resguardo y gozan de gran respeto por su conocimiento ancestral. En número menor el conocimiento fue adquirido por medio de la relación con sabedores, y la consulta de documentos escritos relacionados con el uso de tradicional de las plantas, correspondiendo al 25 % y 17% respectivamente de los participantes de la entrevista (Figura 8). Un sabedor, en este caso, es una persona que conoce sobre el tema en cuestión, pero no necesariamente, es de edad avanzada, y tampoco debe obligatoriamente pertenecer al Resguardo.

Estos resultados son respaldados por SHAQUIÑAN (2010); ADC *et al.* (2012a); Álvarez (2007); SHAQUIÑAN (2011) y Ojeda (2006), quienes precisan que al leer sobre el pueblo Pasto, se pueden distinguir la existencia de diferentes roles, en cuanto a la transmisión del conocimiento

antiguo, entre estos, los mayores, abuelos, abuelas, comuneros, líderes comunitarios, shagreros, médicos tradicionales, taitas y el YACHAC (sabio).

Según ADC *et al.* (2012b), en el gran territorio de los Pastos los humanos desarrollaron un conocimiento antiguo sobre las plantas de su entorno y sus usos en medicina natural. Este conocimiento antiguo hace parte de la memoria colectiva del pueblo Pasto, el cual se está poco a poco perdiendo por falta de transmisión oral entre los mayores que saben, y los jóvenes que deben aprender.

En los parámetros de evaluación de la adquisición del conocimiento, tanto con mayores, como con sabedores, se evidencia que se da por transmisión oral. Al respecto, Gálvez (2015) describe que el ser humano aprende, entre otros, de lo que recibe de los individuos con los que se relaciona, ya sean estos de su misma o de distinta generación; produciéndose la transmisión del conocimiento bien desde las generaciones anteriores hacia las posteriores, el caso más frecuente, o bien desde las generaciones jóvenes a las mayores, cuando se trata de conocimientos que por su carácter novedoso hayan sido más fácilmente aprehendidos por los individuos más jóvenes de la sociedad.

De acuerdo a Gómez y Gómez (2006), los saberes son generados en las comunidades rurales a partir de la observación acuciosa, sistemática y la convivencia con la naturaleza y son transmitidos de generación a generación por la tradición oral. Esto concuerda con la información dada por los entrevistados, quienes indicaron que los conocimientos adquiridos sobre el uso de las plantas se debe a la comunicación oral con los mayores y sabedores.

Beltrán (2015) afirma que por lo general, la mayor parte de los saberes son aprendidos en la niñez-juventud, entre los 10-19 años, debido a que es el tiempo en que los niños están con sus padres y otros familiares, en las actividades cotidianas como la chagra y la pesca; en los otros periodos de edad, un sabedor y médico tradicional, empieza a viajar, desplazándose a diferentes espacios geográficos, donde aprenden saberes especializados (30-50 años) y ya después de los 50 años es la época donde tienen el mayor conocimiento y la experiencia que los hace grandes médicos tradicionales o chamanes, muy respetados.

Con respecto al tamaño del predio en donde se encuentran las especies vegetales puestas a consideración, los resultados indicaron que para la mitad de la población entrevistada, los predios no pasan de media hectárea, en cambio el 33% afirmaron que las propiedades están entre 1 y 3 ha, y solo el 17% opinaron que las especies se pueden encontrar distribuidas en predios mayor a 3 ha (Figura 8).

De acuerdo a Rengifo (2014) y UPRA (2015), la mayoría de los predios rurales en Colombia y el departamento de Nariño, corresponden al microfundio, con menos de 3 ha y en un porcentaje menor al minifundio (de 3 a 10 ha), como sucede en este caso, donde se evidencia que el tamaño de la propiedad rural en general no supera una hectárea.

Por otra parte, los resultados encontrados pueden deberse a que mucha de las plantas no son importantes económicamente, pero si son útiles a nivel doméstico, por lo tanto, son sembradas en los alrededores de los predios, en huertos caseros, jardines de plantas medicinales, cercas vivas, potreros y borde de caminos.

Al respecto, Ordoñez *et al.* (2004) afirman que en las cuencas altas del Guamues y el Pasto, los agroecosistemas son muy diversos y su composición florística es típica de la vegetación altoandina, identificándose especies como: *Origanum vulgare*, *Ruta graveolens*, *Calendula officinalis*, *Urtica dioica*, *Bidens pilosa*, *Bocconia frutescens*, *Datura sanguinea* (*Brugmansia sanguinea*, *Equisetum*, entre otras. Por otra parte, *Furcraea* sp., es una especie que habita al margen de caminos, áreas cercanas a los ríos, escarpes y matorrales (Díaz, 2012). *Tagetes* sp. y *Nicotiana tabacum* se han encontrado en espacios cercanos a los ríos; y, por otra parte, *Capsicum annuum* y *Lippia* sp. en caminos (Díaz, 2012). Resultados que concuerdan con los presentados en esta investigación, ya que las especies anteriores están también entre las reportadas en los predios de los Pastos, en los distintos agroecosistemas, especialmente en huertos caseros, cercas vivas, bordes de camino y de quebradas.

5.1.3 Selección de cinco especies vegetales para evaluar *in vitro* su capacidad antifúngica.

Se priorizaron 5 especies reconocidas por ser utilizadas para el control de enfermedades en los cultivos del territorio Pasto (Tabla 5), estas se escogieron por ser las que obtuvieron los mayores porcentajes de reconocimiento por parte de las personas entrevistadas (Tabla 4), además de

figurar entre sus usos el de fungicidas (Tabla 4). *Ambrosia arborescens* y *Furcraea* sp. fueron las especies más identificadas para controlar enfermedades debidas a hongos, siendo reconocidas por el 91,7% de la población consultada, seguidas por *Lippia organoides* que también es identificada para la preparación de fungicidas por un alto porcentaje de los entrevistados (83,3 %) y finalmente quedaron *Tagetes zypaquerensis* y *Brugmansia sanguinea* con un 75% de reconocimiento.

Tabla 5. Especies seleccionadas para evaluar su potencial antifúngico en condiciones *in vitro* (Muñoz, 2017).

Nombre Común	Nombre científico	Familia
Gallinazo	<i>Tagetes zypaquerensis</i> Bonpl.	Asteraceae
Altamisa	<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.	Asteraceae
Orégano de monte	<i>Lippia organoides</i> Kunth.	Verbenaceae
Fique	<i>Furcraea</i> sp.	Agavaceae
Borrachero rojo	<i>Brugmansia sanguinea</i> (Ruiz & Pav.) D. Don.	Solanaceae

Se precisó también que *Ambrosia arborescens* está distribuida en todo el resguardo y crece principalmente en linderos y en parches de zonas en recuperación. *Brugmansia sanguinea* se encuentra en los pisos térmicos altos, haciendo parte de linderos y cercas vivas. En cuanto a *Furcraea* sp., se halla de forma silvestre en todo el resguardo y como cultivo en la parcialidad de Imues, donde fue una de las principales fuentes de desarrollo en los años 90 para la región. *Tagetes zypaquerensis* es una planta muy común en clima frío y crece en medio de cultivos y potreros. Y de *Lippia organoides* que es una planta de crecimiento espontáneo sobre todo en las zonas poco cultivadas áridas de la parcialidad de Guaitarilla.

5.1.3.1 Descripción de las especies priorizadas.

La descripción irá acompañada del perfil cromatográfico de cada una de las especies, puesto que se enfocará en las propiedades fitoquímicas derivadas de los metabolitos secundarios que poseen.

- **Gallinazo (*Tagetes zypaquerensis* Bonpl).**

El gallinazo (Figura 9) es una especie herbácea que crece en macas en medio de los potreros, siendo muy conocido por el olor astringente de sus flores y hojas. Esta especie es originaria de Ecuador y Colombia; y pertenece a la familia Asteráceae, conocida como la más numerosa en el planeta, comprendiendo más de 1.700 géneros y unas 24.000-30.000 especies distribuidas por todo el mundo, por lo que es la familia de las angiospermas con mayor riqueza y diversidad biológica. *Tagetes zypaquerensis* es un arbusto medicinal, perenne que se encuentra en las zonas templadas de las cordilleras colombianas (Baldeón, 2011).



Figura 9. *Tagetes zypaquerensis* Bonpl. (Muñoz, 2017)

Tagetes es una planta anual, de 0,3 a 1,3 m de altura, con olor característico y penetrante; de tallos erectos o casi, bien ramificados; hojas pinnadas y lámina ovado elíptica de bordes aserrados, las superiores alternas, las inferiores opuestas, de más o menos 10 cm de largo; flores de 4 a 8 capítulos, axiales, solitarias y cabezuelas pedunculadas con corolas de color amarillo (Baldeón, 2011).

Para la especie *Tagetes zypaquerensis* se reportan flavonoides los cuales tienen capacidad antioxidante; además aldehídos y cetonas (Tagetona E y Z, Tagetenona, Dehidrotagetona) con propiedades alelopáticas para control de insectos y enfermedades fitopatógenas (Escobar *et al.*, (2014) y Alvarez *et al.* (2016), lo anterior se debe a que los extractos con principios activos

como el trans-anetol, alilanisol, β -cariofileno y tagetona, han demostrado ser tóxicos, repelentes e inhibidores de la reproducción y crecimiento (Camarillo *et al.*, 2009).

Romagnoli *et al.*, (2005), reportaron propiedades antifúngicas del aceite esencial de *Tagetes patula* identificándose treinta componentes, entre estos piperitona, piperitenona, terpinoleno, dihidro tagetona, *cis*-tagetona, limoneno, y el oocimeno, que le confieren propiedades antibacterianas.

En *Tagetes* sp. también se encuentran componentes químicos como el carbaol y timol, los cuales son usados en la agricultura como pesticidas y acaricidas; así mismo, compuestos tóxicos para algunos nematodos, como son monoterpenos, sesquiterpenos, ésteres de etilo y ácidos grasos (E-tagetona, *cis*-ocimeno, dihidrotagetona) en *T. zypaquerensis* (Díaz *et al.*, 2012; Ploeg, 2000).

Al respecto, Alvarez *et al.* (2016) y Baldeón (2011) identificaron la dihidrotagetona, E-tagetona y Trans-ocimenona, *cis*-tagetona, ácidos grasos y ésteres de etilo como los principales compuestos en el aceite esencial de *Tagetes zypaquerensis*; similares a los compuestos químicos identificados en los perfiles cromatográficos realizados para *Tagetes* en esta investigación (Tabla 6).

Por otra parte, Díaz *et al.* (2012), en el aceite esencial de *T. parryi* encontraron siete compuestos mayoritarios: canfeno, 3, 6, 6-trimetil-2-norpinanol, anisol, 4-isopropil-1-metil-2-ciclohexenol, cineol, eugenol y α -terpineol; el segundo y cuarto compuestos no se habían identificado para el género *Tagetes*.

Tabla 6. Perfil cromatográfico de metabolitos secundarios de *T. zypaquerensis* (Muñoz, 2017).

No	Identificación de M.S en extracto acuoso	Identificación de M.S en aceite esencial	Mg/litro de extracto	Porcentaje
1	Isopropil isotiocianato		0,2	
2	2-Hexenal		0,2	

3	3-Hexenol	0,4
4	trans- β -Ocimeno	0,4
5	dihidrotagetona	1,1
6	9,10-Diazatriciclo[4.4.0.0(2,8)]dec-9-ene	0,3
7	Linalool	0,1
8	Trans-Tagetona	1,2
9	Verbenona	0,6
10	7a-metil-4,5,6,7-tetrahidro-1H-inden-2-ona	6,3
11	Ácido 8,11,14-Eicosatrienoico metil ester	0,4
12	trans,trans-3,5-Heptadien-2-ona	0,8
13	Mircenol	0,2
14	Tetradecane	3,2
15	biciclogermacreno	0,4
16	B-Bisaboleno	1,4
17	Fitol	1,0
18	7-Hidroxicoumarina	1,1
19	2-Feniltieno[2,3-B]tiofeno	0,4
20	Ácido Linoleico	1,2
21	Ácido Oleico	1,0
22	cis-ocimeno	3,4
23	Dihidrotagetona	10,5
24	E-tagetona	10,4
25	cis- ocimenona	5,7
26	trans- ocimenona	61
27	E,E, α -farneseno	7,4
28	β - bisaboleno	1,7

- **Altamisa (*Ambrosia arborescens* Mill)**

Se conoce comúnmente como "marco, maleo, ajenjo, altamisa, artemisia. Es una planta aromática, medicinal perteneciente a la familia Asteráceae. De origen centroamericano, pero muy distribuida en América del Sur, mayormente en los Andes desde Bolivia hasta Colombia (Gupta, 1995).

Se encuentra desde los 1200 hasta los 3500 m de altitud, adaptándose a diferentes tipos de suelos, además soportando helada y sequías. Según Cano (2014), se le encuentra bajo la forma de matorrales, al margen de caminos, en medio de la huerta, bordeando cultivos y canales de riego, cerca de las riberas y fuentes de agua.

A. arborescens (Figura 10) es una planta perenne, erecta, muy aromática, de hasta 2 m de altura; sus hojas son alternas u opuestas, de color verde blanquecino, cubiertas en la parte inferior de largas vellosidades y profundamente bipinnatifidas; las flores masculinas son de color verde, dispuestas en capítulos terminales, las flores femeninas se agrupan en las axilas superiores de las hojas; el fruto es ovoide, anguloso y espinoso, de 3-4 mm de largo (Gupta, 1995).



Figura 10. *Ambrosia arborescens* Mill. (Muñoz, 2017).

El género *Ambrosia* ha sido ampliamente estudiado fitoquímicamente (Yáñez *et al.*, 2011), evaluándose como antioxidante por los flavonoides y glicósidos que contienen (Zoran, 2008). *A. arborescens* tiene como metabolitos secundarios: antraquinonas, azúcares reductores, flavonoides, lactosas sesquiterpénicas, taninos, alcaloides (sobre todo en flores) y Aminoácidos libres (Yáñez *et al.*, 2011).

En correspondencia a esto, en estudios realizados por Chalchat *et al.* (2004), Wang *et al.* (2006) y Yáñez *et al.*, (2011), se identificaron diferentes compuestos, entre estos, D-germacrene, limoneno, alfa-pineno, acetato de bornilo, borneol, óxido de cariofileno, gamma-curcumeno, ar-curcumeno, camfor y cis-epóxido-oximeno; los cuales, según los autores exhibieron una importante actividad antimicrobiana.

En el aceite *A. arborescens* se encontró una composición rica en monoterpenos en pequeñas concentraciones, destacándose una concentración muy importante de la crisantenona, y en porcentajes representativos de sesquiterpenos como: γ -curcumeno y germacreno D. La presencia de estos componentes manifiesta el poder tóxico que posee esta especie, contribuyendo a esta actividad la presencia de otros monoterpenos como las tujonas, lo que está relacionado con funciones de protección o defensa de las plantas, contra ataques de microorganismos e insectos (Vera, 2008).

El aceite esencial de *A. arborescens* tiene 3-careno, limoneno, p-cimeno, α -pineno, limoneno, crisantenol, terpiloneno, cariofileno, aloaromadendrano, humuleno, isoborneol, cariofileno-epoxido, carotolgermacranos (Cruz, 2009; Vera, 2008); compuestos que, entre otros, también fueron encontrados por Benavides (2011), los cuales se muestran en el perfil cromatográfico de *Ambrosia arborescens* (Tabla 7).

Tabla 7. Perfil cromatográfico de metabolitos secundarios de *A. arborescens* (Benavides, 2011).

No	Identificación de M.S en aceite esencial	Porcentaje
1	α - Pineno	1,1
2	o -cimeno	1,6
3	p – cimeno	1,1

4	Limoneno	8
5	cis – Crisantenol	7,2
6	Isoborneol	2,2
7	r – Curcumeno	1,4
8	ar – curcumeno	4
9	Germacreno D	1
10	Ar – Tumerol	1,1
11	Espatulenol	1,2
12	Oxido de cariofileno	1,5
13	Curcufenol	1
14	xantorrizol	1,1

- **Orégano de monte (*Lippia origanoides* Kunth)**



Figura 11. *Lippia origanoides* Kunth. (Muñoz, 2017).

Especie perteneciente a la familia Verbenácea la cual consta de alrededor de 90 géneros y 2.000 especies, caracterizándose por su alta diversidad biológica. En Colombia se encuentra en forma silvestre, el llamado orégano de monte (*Lippia origanoides*) (Figura 11), el cual es de origen neotropical y todas sus características indican que es conspecífica con *Lippia suaveolens* que crece desde el sur de EU hasta Guatemala (Kintzios, 2002).

Esta planta se desarrolla bien en ambientes semiáridos de los departamentos de la Guajira, Magdalena, Cauca, Cundinamarca, Santander, Norte de Santander (Vicuña *et al.*, 2010) y Nariño (Arango *et al.*, 2012; Vega *et al.*, 2011). En la zona suroccidente entre los departamentos de Cauca y Nariño, en la región del Alto Patía, caracterizada por un clima tropical muy seco, *L. origanoides* crece de forma silvestre (Arango *et al.*, 2015).

Se caracteriza por ser un arbusto que mide de 45 cm hasta 1.80 m de alto; las hojas son opuestas ovales y anchas de entre 2 a 5 cm de largo, con bordes enteros o ligeramente dentados, el haz es denso y suavemente piloso, el envés glandular y densamente tomentoso a piloso; flores diminutas de color blanco que nacen en apretadas inflorescencias terminales muy ramificadas, protegidas por diminutas hojillas de color rojizo; frutos pequeños encerrados en el cáliz. Toda la planta posee unas pequeñas glándulas donde esta almacenada la esencia aromática, de color amarillo limón, compuesta por un estearopteno y dos tipos de fenoles, uno de ellos carvacrol y el otro timol (Sánchez, 2007; Villavicencio *et al.*, 2010).

La mayoría de las especies de orégano poseen notables propiedades medicinales, que se explican por la extraordinaria y compleja composición química que tienen estas plantas (Vásquez, 2012). Las hojas y los tallos del orégano contienen aceite esencial, sustancias tónicas, un principio amargo, goma-resina, entre otras; la esencia tiene como componentes principal, el carvacrol y también contiene timol, α -pineno, p -cimeno, terpenos principalmente (Vásquez, 2012).

El timol y carvacrol son componentes con propiedades para inhibir el crecimiento de hongos parasitarios, también son bactericidas (atacan estreptococos y estafilococos) y pueden controlar el desarrollo de parásitos y virus (Camarera, 2005). Duke (2002) afirmar que el timol y el carvacrol son compuestos fenólicos naturales, considerados como posibles antioxidantes, agentes antifúngicos y antibacteriales, insecticidas, pesticidas y vermícidias. En el perfil cromatográfico de *L. origanoides* hecho para esta investigación se puede observar la presencia de estos metabolitos secundarios (Tabla 8).

En aceite esencial los principales compuestos reportados son: Timol, p -cimeno, terpineno, carvacrol y terpineol (Arango *et al.*, 2015; Vásquez, 2012). Así mismo, limoneno, β -cariofileno, p -cimeno, canfor, linalol, α -pineno y timol, los cuáles pueden variar de acuerdo con el quimiotipo

(Arcila *et al.*, 2004); similar a los metabolitos secundarios identificados en el *L. origanoides* evaluado en esta trabajo (Tabla 8). Arango *et al.* (2012) también identificaron como compuestos mayoritarios de el aceite esencial de *L. origanoides* a timol, ρ -cimeno, mirceno y γ -terpineno.

Ruiz *et al.*, (2007), analizaron extractos de hojas de dos quimiotipos de *L. origanoides*, los compuestos mayoritarios en los extractos para el quimiotipo I fueron p-cimeno y 1,8-cineol y para el quimiotipo II timol y p-cimeno. Castañeda *et al.* (2007), estudiaron el aceite esencial de *Lippia origanoides*, encontrando dos quimiotipos, quimiotipo A (típico) cuyos componentes mayoritarios fueron carvacrol, p-cimeno, terpineno, timol, y α -terpineno; mientras que, para el quimiotipo B (atípico) los componentes mayoritarios fueron p-cimeno, trans- β cariofileno, α -felandreno + d-3-careno, limoneno y β -felandreno + eucalipto.

Tabla 8. Perfil cromatográfico de metabolitos secundarios de *Lippia origanoides* Kunth (Muñoz, 2017).

No	Identificación de MS en extracto acuoso	Identificación de MS en aceite esencial	Mg/litro de extracto	Porcentaje
1		β -mirceno		1,7
2		α -terpineno		0,9
3		o-cimeno		4,8
4		Limoneno		0,3
5		γ -terpineno		3,3
6		Linalool		0,5
7		Verbenona		0,4
8		Timol metil eter		1,4
9		Neral		0,3
10		Timol		73,1
11		Carvacrol		0,2
12		Acetato de timilo		1,1
13		trans- β -cariofileno		5,0

14	trans- α -bergamoteno	0,2
15	α -Humuleno	2,8
16	2-tert-Butil-4- hidroxi -anisol	0,6
17	β -bisaboleno	0,8
18	δ -cadineno	0,2
19	alfa-Humuleno	0,1
20	Oxido de cariofileno	1,0
21	Oxido de humuleno	0,3
22	2-Hexadecenol	0,2
23	Isobutenilcarbinol	0,043
24	Alcohol isopentilico	0,002
25	Prenil alcohol	0,001
26	3-Metil-2-butenal	0,006
27	3-Hexenol	0,005
28	6-octen-2-ona	0,001
29	β -mirceno	0,001
30	Cimeno	0,005
31	γ -terpineno	0,001
32	Furaneol	0,014
33	Epoxy-ocimeno	0,002
34	Linalool	0,018
35	Feniletil alcohol	0,001
36	Ciclooctanona	0,002
37	Umbellulona	0,001
38	Terpinen-4-ol	0,021
39	Cuminol	0,007
40	α -terpineol	0,002
41	Timol metil eter	0,002
42	Timol	2,739

43	Carvacrol	0,005
44	Isoascaridol	0,011
45	3-metiltridecano	0,002
46	Ácido Decanoico	0,001
47	2-ciclopentil-1-ciclopentanona	0,003
48	trans-cariofileno	0,002
49	β -selineno	0,125
50	p-tert-butil-catecol	0,037
51	2,3-Dimetil-4-metoxifenol	0,013

Entre los componentes no volátiles de *Lippia* sp, las flavonas son el tipo predominante de flavonoides (Kintzios, 2002) y en extractos metanólicos de hojas de *L. graveolens* se han encontrado iridoides (Vásquez, 2012). Los estudios comparativos sobre el patrón de flavonoides pueden ser útiles para establecer relaciones a nivel de subgéneros en diferentes especies.

- **Fique (*Furcraea* sp.)**

El género *Furcraea* (Figura 12) es endémico de América Tropical, específicamente de la región andina de Colombia y Venezuela, aunque se le encuentra de manera natural desde el sur de México hasta Brasil; con distribución en Ecuador, Bolivia, Perú hasta los 2800 m de altitud (Pino, 2006).

Furcraea spp. son estrictamente monocárpicas, de tallos ausentes o con tronco grueso de hasta 6 m y hojas densamente dispuestas, numerosas, alargadas, lanceoladas, estrechas, delgadas y flexibles o gruesas, ápice cortamente apuntado, firme y márgenes enteros, denticulados o groseramente dentados; inflorescencia alta, laxa, terminal, en panículas de hasta 13 m; inflorescencias parciales sobre largas ramas laterales, a menudo bulbíferas, compuestas por flores péndulas, bracteadas, pediceladas, solitarias o en grupos fasciculados de 2-5, a menudo todas o en parte reemplazadas por bulbillos; fruto oblongo u ovoide loculicida, con cápsulas valvadas y semillas aplanadas, de color negro (Casierra y Gómez, 2008).



Figura 12. *Furcraea* sp. (Muñoz, 2017).

De este género hacen parte especies textiles de gran importancia en los mercados nacionales e internacionales, tanto por las características de la fibra, como por el contenido de precursores de hormonas, corticoides, azúcares, ácidos grasos y biopesticidas, que se encuentran en el jugo que se obtiene a partir de sus hojas (Martínez, y Pacheco, 2006).

Varios estudios realizados sobre el jugo de fique, indican que este líquido posee varias sustancias químicas de alto valor agregado, tal como las sapogeninas (hecogenina y tigogenina), empleadas en la industria farmacéutica como precursores de medicamentos hormonales y corticoides (Bacca, 2012). Además, alcaloides tropánicos y flavonoides, los cuales al parecer le confieren propiedades biocidas a los residuos líquidos de fique (Tabla 9) (Rojas y Luque, 2012; Bacca, 2012).

Tabla 9. Metabolitos secundarios de *Furcraea gigantea* (Bacca, 2012).

Metabolitos	Presencia (+)
	Ausencia (-)
Alcaloides	+
Cumarinas	-

Glicósidos	-
Terpenlactonas	-
Flavonoides	+
Quinonas	-
Taninos	+
Esteroides	+
Saponinas	+

Sin embargo, en esta investigación solo se analizó la presencia de saponinas, ya que estudios previos confirman su actividad biológica contra patógenos, entre estos plaguicidas y fungicida, y por lo tanto su potencial para el desarrollo del bioinsumo (Gomez y Vanegas, 2001).

El perfil cromatografico de metabolitos secundarios de *Furcraea* sp., obtenido después de someter a análisis el jugo de fique fermentado (3 días) se indica en la Tabla 10. Este determinó la presencia de tigogenina y hecogenina como compuestos mayoritarios, en porcentajes de 44% y 49,1 %, respectivamente.

Tabla 10. Perfil cromatográfico de metabolitos secundarios de *Furcraea* sp. (Muñoz, 2017).

Identificación	Porcentaje
Tigogenina	44
Hecogenina	49,1

Estudios realizados con fique indican que el 70% de este, es jugo, el cual tiene alto contenido de saponinas y alcaloides. Las saponinas al hidrolisarse, producen saponinas y azucares; las primeras son precursoras de hormonas y corticoides, entre los que se encuentra la hecogenina (Gomez y Vanegas, 2001), como es evidente en el perfil cromatografico de *Furcraea* sp. elaborado para esta investigacion.

Benavides *et al.* (2012) también encontraron hecogenina y tigogenina al analizar más detalladamente los contenidos de saponinas, tanto en jugo fresco de fique (*Furcraea gigantea*) como fermentado. Pantoja y Villota (2013) comprobaron la presencia de saponinas y alcaloides.

Osorio *et al.* (2012), afirman que es significativo anotar que estos compuestos son importantes no solo en la industria farmacéutica, sino también, que son los que pueden actuar como los componentes limitantes del jugo de fique en la elaboración de un posible bioinsumo, por ello la importancia de poder medir y controlar la presencia de estos componentes en el proceso de concentración del jugo de fique.

- **Borrachero (*Brugmansia sanguinea* (Ruíz & Pav.) D. Don.**

Brugmansia sanguinea (Figura 13) pertenece a la familia Solanáceae, que es una de las familias más abundantes del planeta, así como una de las más estudiadas, distribuyéndose en todos los continentes a excepción de la antártida, con gran dispersión en América del Sur y Central. A esta familia pertenecen especies tan importantes como la papa (*Solanum tuberosum*), ajís y pimientos (*Capsicum* spp.) y tomate (*Solanum lycopersicum*) (Escobar, 2018).



Figura 13. *Brugmansia sanguinea* (Ruiz & Pav.) D. Don (Muñoz, 2017).

En Colombia, *Brugmansia sanguinea* es más frecuente en las zonas secas a altitudes entre 2.000 y 3.500 m, y se ha registrado en Boyacá, Cundinamarca, Cauca, Nariño, Putumayo y Santander (Álvarez, 2008).

B. sanguínea es un arbusto leñosos de 2 y 10 m de altura, el fuste suele ser bastante irregular y posee una corteza que externamente es café verdosa e internamente es blanca cremosa; posee hojas herbáceas grandes, simples, alternas y pecioladas (Minga, 2000); presenta flores tubulares, amarillas o verde amarillentas en la base, que se tornan rojas hacia el extremo abierto de la corola, con las prolongaciones de la corola más cortas que las anteriores (Álvarez, 2008); las flores son muy vistosas y fragantes, este olor característico es el que delata la presencia de sustancias alcaloides en la planta (Lojan, 1992). Los frutos son bayas de color verde, ovoides e igualmente grandes.

La especie vegetal conocida tradicionalmente como borrachero rojo (*B. sanguinea*), contiene principalmente alcaloides (escopolamina, hioscina, hiociamina, alcoholes fenólicos), a los cuales se les conoce principalmente actividad insecticida (Nava *et al.*, 2012), sin embargo, se ha reportado que el aceite esencial contiene compuestos tipo terpenoide los cuales presentan actividad biológica para el control, tratamiento o prevención de enfermedades de en plantas, puesto que participan activamente eliminando directamente al microorganismo patógeno y/o restringiendo su invasión al resto de la planta (Lizcano, 2007), razón por la cual se considero en esta investigación, además de su valoración como planta útil, en el Resguardo.

Entre los alcaloides que contienen las especies del género *Brugmansia* están: escopolamina, nioscamina, atropina, hyocine, hyosciamina, norhyocine, apohyocine, (-)-3a-Tigloyloxy6~-acetoxytropane, d3a-Acetoxytropane y los variados alcaloides del grupo tropano, tales como norescopolamina, aposcopolomina, metelodina. Siendo la escopolomina la que aparece en mayor proporción (Zayed y Wink, 2004).

Arguedas *et al.* (2018), hicieron tamizaje fitoquímico de la flor de *Brugmansia candida*, encontrando que los principales grupos de metabolitos secundarios presentes correspondieron a ácidos grasos, alcaloides, compuestos reductores, cumarinas, esteroides y/o triterpenos, polisacáridos y taninos; así mismo, confirmaron la presencia de la escopolamina.

Muedas (2006), realizó el análisis cualitativo de los metabolitos secundarios (marcha fitoquímica) presentes en las hojas de *D. sanguínea*, logrando verificar la presencia de aminogrupos primarios y/o secundarios, grupos fenólicos libres, alcaloides, triterpenos y esteroides, catequinas y saponinas.

A continuación se presenta el perfil cromatográfico realizado en esta investigación para *Brugmansia sanguínea* (Tabla 11), donde se puede observar los metabolitos secundarios que se determinaron en esta especie.

Tabla 11. Perfil cromatográfico de metabolitos secundarios de *Brugmansia sanguinea* (Ruiz & Pav.) D. Don (Muñoz, 2017).

No	Identificación de MS en extracto acuoso	Identificación de MS en aceite esencial	Mg/litro de extracto	Porcentaje
1		Linolool		1,3
2		2-undecanona		3,5
3		β -elemeno		0,6
4		Cariofileno		3,8
5		β -farneseno		3,9
6		cis-sesquisabineno hidrato		3,3
7		2-tridecanona		4,6
8		Oxido de cariofileno		3,3
9		6,10,14-trimetill-2-pentadecanona		0,7
10		Palmitato de metilo		2,0
11		AcidoPalmitico		13,7
12		Heneicosano		13,2
13		Linolenato de metilo		1,6
14		Fitol		2,7
15		Heneicosano		2,8
16		Tetratetracontano		26,2
17		Heneicosano		7,9
18		n-heptadecano		0,6
19		Metil-octacosano		0,8
20		Heneicosano		3,6

21	Tetradecano	3,2
22	Fitol	4,1
23	9-Dodecenil acetato	0,5
24	cis-Fitol	1,0
25	6-metilooctahidrocoumarina	0,2
26	Gliceril monolinoleato	0,4
27	Ácido n-Hexadecanoico	7,4
28	Ácido Linoleico	5,2
29	9,12,15-Octadecatrien-1	13,8
30	Ácido Oleico	0,4

5.2 Obtención de *Moniliophthora roreri*

Se seleccionaron 3 aislamientos que por sus características macroscópicas y microscópicas correspondieron a *M. roreri* (Figura 14). La homogeneidad genética de los aislamientos se garantizó por su procedencia a partir de cultivos monospóricos.

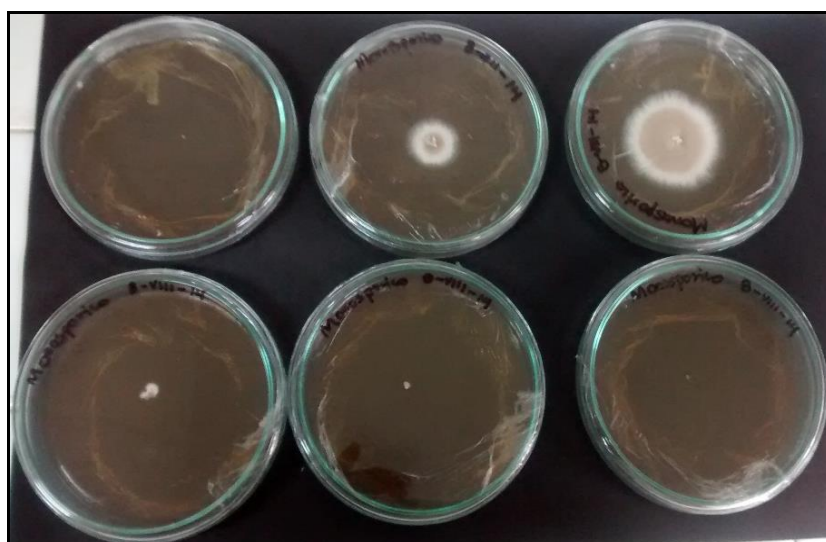


Figura 14. Obtención de cultivos monospóricos de *Moniliophthora roreri* (Muñoz, 2017).

Moniliophthora roreri exhibió micelio septado y brillante; esporas producidas en cadena, hialinas y de forma globosa (Figura 15).

Resultados similares encontraron Evans (1981) y Torres de la Cruz (2010), quienes reportaron que *M. roreri* se caracteriza por tener micelio septado con doliporos típicos. Suárez (2006), además describió la presencia de conidias globosas, hifas y conidias hialinas durante el estado joven del hongo, así como, micelio hialino y brillante, igual a las características de *M. roreri* visualizadas en esta investigación.

González y Roble (2014) concordaron en la observación y disposición de las esporas en las hifas y los 3 tipos de esporas: globosas, subglobosas y elípticas. Suárez (2004) precisó la presencia de estructuras septadas, moniliformes, conidios hialinos brillantes, heteromorficos bi o trifurcados en su base, con un micelio corto y entreverado en sus puntas, como características propias del hongo en estudio.

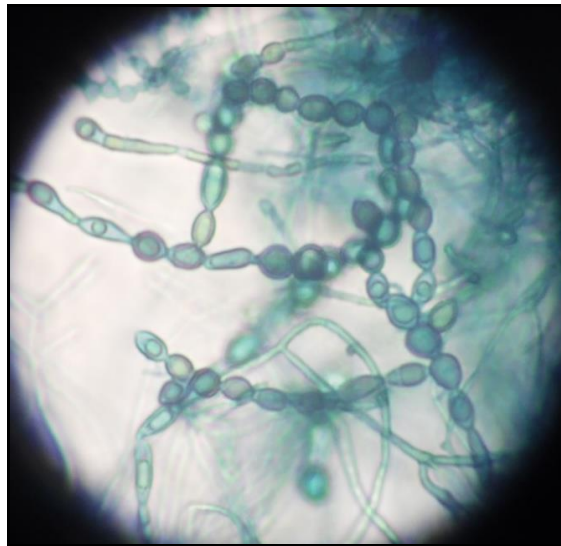


Figura 15. *Moniliophthora roreri* (Muñoz, 2017).

En cuanto a las características macroscópicas *M. roreri* presento crecimiento lento y de aspecto radial, formación de anillos concéntricos, de aproximadamente 8 cm de diámetro, coloración café crema a rosado salmón, textura polvosa y superficie plana (Figura 16).

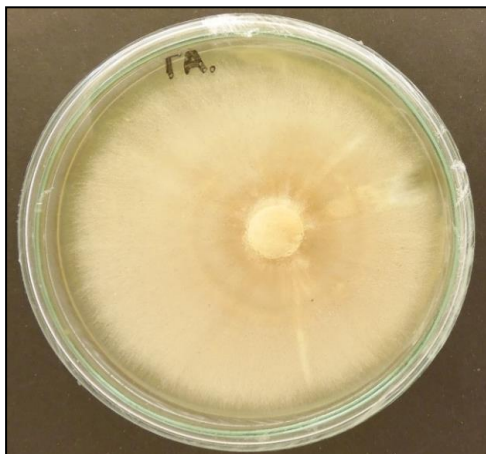


Figura 16. Colonia de *M. roreri* (Muñoz, 2017).

Suárez y Rangel (2012), describen colonias con crecimiento radial en áreas concéntricas, formación de anillos con diferentes tonalidades desde el centro hasta el borde de la colonia, con textura afelpada y bordes enteros y estriados, características macroscópicas que concuerdan con las presentadas en los aislamientos de *M. roreri* obtenidos en la presente investigación.

Castañó (1952) y Suárez (2006) además de lo mencionado anteriormente, describen un centro pardo oscuro, con masa conidial pulverulenta dispuesta en una capa compacta contiguamente a una zona color crema, salpicada con masa conidial.

5.3 Evaluación de la capacidad antifúngica de los extractos vegetales sobre el crecimiento *in vitro* de *Moniliophthora roreri*.

El análisis de varianza para la evaluación de la capacidad antifúngica de los extractos vegetales sobre el crecimiento *in vitro* de *Moniliophthora roreri*, detectó diferencias altamente significativas ($P < 0.0001$) para especie, dosis y la interacción especie*dosis, a un nivel de confiabilidad del 95% (Tabla 12).

Tabla 12. Análisis de varianza para la evaluación de la capacidad antifúngica de los extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de *Moniliophthora roreri*.

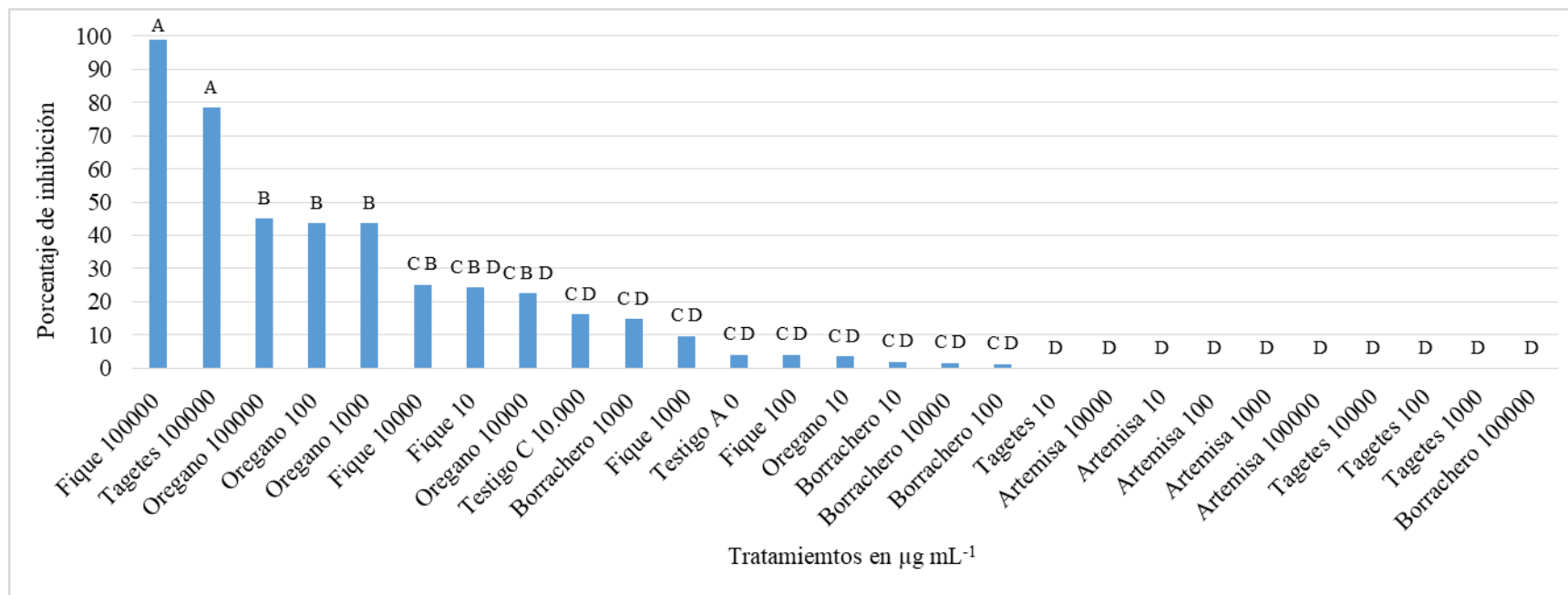
Tests de efectos fijos				
Efecto	Num DF	Den DF	F-Valor	Pr > F
Especie	4	81	14.73	<.0001**
Dosis	4	81	15.93	<.0001**
Especie*Dosis	16	81	5.89	<.0001**

** : *Altamente significativo* ($p > 0,001$)

La prueba de comparación de medias de Tukey para la interacción especie*dosis separó los promedios de las especies *Furcraea* sp. y *Tagetes zypaquerensis* a 100000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ como las de mayor inhibición del crecimiento de *M. roreri*, en este mismo análisis se formó otro grupo con orégano de monte a 100000, 1000 y 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ como la segunda mejor inhibición; así mismo entre estas y fique a las concentraciones de 10000 y 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$, junto con orégano de monte a 10000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. *Furcraea* sp. (100000, 10000, 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$), *Tagetes zypaquerensis* (100000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) y *Lippia oreganoides* (todas sus dosis) difirieron estadísticamente del testigo comercial, que solo alcanzo un porcentaje de inhibición del 16.2%, igual que con el testigo absoluto, donde la colonia de *M. roreri* creció normalmente (4 cm en promedio) (Figura 17).

No hubo diferencias significativas entre *Furcraea* sp. y *Tagetes zypaquerensis* a 100000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, en cada caso el crecimiento de *M. roreri* se inhibió en 99 % y 78.5 %, respectivamente. Similar ocurrió con *Lippia oreganoides* a 100000, 1000 y 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, que disminuyeron el desarrollo del patógeno entre 45 % y 43.7% y lo mismo, entre *Furcraea* sp. en 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ y *Lippia oreganoides* en 10000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. El testigo comercial (oxicloruro de cobre) no difirió significativamente con aquellos tratamientos que inhibieron el crecimiento de *M. roreri* por debajo del valor alcanzado por este (16.2%,) (Figura 17).

Figura 17. Comparación de medias del efecto de los extractos vegetales sobre el crecimiento *in vitro* de *Moniliophthora roreri*.



Letras diferentes indican diferencias estadísticas ($p > 0,05$)

Los extractos que mostraron mayor capacidad antifúngica fueron en su orden fique (*Furcraea* sp.), tagetes (*Tagetes zypaquerensis*) y orégano de monte (*Lippia oreganoides*). Siendo *Furcraea* sp. y *Tagetes zypaquerensis* las especies más eficientes en disminuir el crecimiento de *M. roreri* (superior del 75%) en sus concentraciones más altas. Con *Lippia oreganoides* la inhibición se disminuyó considerablemente (solo hasta el 44% en promedio, en las dosis de 100000, 1000 y 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$), sin embargo los valores estuvieron por encima del control dado por el producto químico recomendado para la monilia en campo, en este caso oxiclورو de cobre, un producto de comprobada acción fungicida.

Según Sánchez (2015), existen estudios preliminares que demuestran que extractos vegetales obtenidos a partir de orégano (*Origanum vulgare*), maguey morado (*Tradescantia spathaceae*) y jengibre (*Zingiber officinale*) pueden ser una estrategia viable para el control de la moniliasis del cacao, como puede ser en el caso de esta investigación, donde los resultados de la evaluación de los extractos de *Furcraea* sp., *Tagetes zypaquerensis*, y *Lippia oreganoides* muestran que estas especies tienen un efecto antifúngico apreciable sobre *M. roreri*.

Se estudiaron extractos obtenidos de: Pimienta dioica, *Zingiber officinale*, *Syzygium aromaticum*, *Origanum vulgare*, *Tradescantia spathacea* y *Cinnamomum zeylanicum* en el manejo de la moniliasis (*M. roreri*) del cacao en México; los resultados obtenidos demostraron que todas las plantas evaluadas poseen metabolitos con capacidad para inhibir en mayor o menor grado el desarrollo de *M. roreri*, ya que, disminuyeron la multiplicación y la germinación de las conidias del hongo (Ramírez, 2013).

Ramírez *et al.* (2010), evaluaron la actividad antifúngica del extracto de *Origanum vulgare* (de la misma familia de *L. oreganoides*), obtenido con diferentes métodos de extracción, sobre el crecimiento *in vitro* de *Moniliophthora roreri*, encontrando que el extracto en forma en hidrolato inhibió completamente el desarrollo del patógeno, seguido del fermentado aeróbico con un 54,4%, el presurizado con 34% y el menor porcentaje de inhibición lo observaron en el fermentado anaeróbico, con un 10%; así mismo, que todos los extractos obtenidos de las hojas de *O. vulgare* inhibieron la formación de conidias entre el 100 y el 71%, es decir que estos extractos muestran actividad antiesporulante.

El efecto antifúngico de *Lippia oreganoides* utilizado en el presente trabajo fue evidente, puesto que el extracto disminuyó el desarrollo del patógeno en todas las concentraciones evaluadas, debido a la presencia de los compuestos secundarios timol y carvacrol, entre otros, los cuales se pueden observar en el perfil cromatográfico de esta especie (Tabla 8).

Tamayo *et al.* (2016), valoraron el efecto del extracto de orégano (*Origanum vulgare*) extraído por destilación, sobre la inhibición del crecimiento y formación de conidias de *M. roreri* en condiciones de laboratorio. Los resultados mostraron efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial de *M. roreri* y formación de conidias: totales y germinadas a concentraciones de 50 y 40% (V/V) del extracto. Esta propiedad antifúngica se debe al efecto de compuestos como el carvacrol y el timol, pertenecientes al grupo de los monoterpenos, que están presentes en las especies de *Lippia* (Kagale *et al.*, 2004, Lizcano, 2007).

El timol y carvacrol son compuestos fenólicos que poseen propiedades antioxidantes, antifúngicas y antibacteriales. Estas moléculas producto del metabolismo secundario de las plantas pertenecen al grupo de monoterpenos aromáticos con propiedades lipolíticas, por eso se considera que estos ejercen una acción sobre la membrana y las enzimas presentes en la célula, lo que les confiere la actividad antifúngica; el timol, es un potencial inhibidor de la pectin-metil-esterasa, enzima que modifica el grado de metilesterificación de las pectinas, que son los principales componentes de las paredes celulares de los hongos, lo que conlleva cambios en la adhesión celular, la plasticidad, el pH y el contenido iónico de esta pared celular, e influye en la permeabilidad e integridad de la membrana (Montoya *et al.*, 2007; Marei *et al.*, 2012).

Los extractos de latex de sande (*Brosimum utile*), elaborados a partir de la extracción de la fracción terpénica y alcaloide del latex, se estudiaron *in vitro* para determinar la actividad antifúngica de estos sobre *M. roreri*. Entre los resultados se encontró que los extractos totales y terpénicos presentaron actividad antifúngica sobre *M. roreri* a 2000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, mientras que el extracto alcaloide mostró actividad fungicida a 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Moreta, 2015).

Acevedo y Serna (2004), valoraron *in vitro* la acción biocida del extracto de fique sobre *Colletotrichum gloeosporoides* y *Sclerotinia sclerotiorum*. Ellos encontraron que el extracto de

fique posee una acción inhibitoria del desarrollo de los hongos. Además, estos mismos autores, observaron el efecto biocida del extracto de fique sobre especies de *Thichoderma* y de *Fusarium* sp. Estos resultados concuerdan con los reportados en este trabajo en referencia al extracto de fique, cuyo extracto también presento efecto fungicida al aplicarse a *M. roreri*.

El aceite esencial de *Tagetes patula* ejerció actividad antifúngica contra los hongos fitopatógenos *Botrytis cinerea* y *Penicillium digitatum*, produciendo completa inhibición del crecimiento en ambos hongos, lo que demuestra la actividad fungicida de las especies de *Tagetes* (Romagnoli *et al.*, 2005), como quedó demostrado en esta investigación, donde el extracto de esta planta limito el crecimiento de *M. roreri* en 78.5%.

De igual manera, Segovia y Suarez (2010) comprobaron la actividad antifúngica de *Tagetes elliptica*, indicado que esta se puede deber a la presencia de los compuestos Isocariofileno y α -Pineno, los cuales presentan actividad antifúngica.

Lippia origanoides se ha evaluado sobre varios agentes causales de enfermedades en plantas, entre estas: Sigatoka negra (Vargas y Rodríguez, 2009) y Sarna polvorienta de la papa (Bittara *et al.*, 2009), investigaciones donde se ha comprobado el efecto inhibitorio de *L. origanoides* sobre los patógenos.

Guerrero (2012) estudio el efecto de *Lippia origanoides* sobre el crecimiento de *Fusarium* sp., y *Colletotrichum* sp., encontrando un efecto de inhibición de los hongos, a medida que se incrementó la dosis, evidenciado en la disminución del crecimiento micelial; lo que coincide con este trabajo, puesto que a la mayor concentración (100000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) fue donde se dio la mayor inhibición de *M. roreri*.

5.4 Evaluación de un bioinsumo en su capacidad de inhibir el crecimiento *in vitro* de *M. Roreri*

Teniendo en cuenta los resultados anteriores, donde se encontró que los extractos de *Furcraea* sp., *Tagetes zypaquerensis* y *Lippia oreganoides*, en la concentración de 100000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, fueron los más eficientes en inhibir el crecimiento *in vitro* de *M. roreri*.; se escogieron estas especies

para elaborar el bioinsumo y como referencia para la mezcla, la dosis a $100000 \mu\text{g mL}^{-1}$, pero para equilibrar el porcentaje de acción de cada especie, puesto que en el porcentaje de inhibición difirieron, presentando diferencias significativas, se decidió utilizarlas en la siguiente proporción: 30 % de *Furcraea* sp., 30% de *Tagetes zypaquerensis* y 40% de *Lippia oreganoides*, debido a que el extracto de esta especie fue el de menor valor en cuanto al porcentaje de inhibición, de las tres.

Se detectó diferencias altamente significativas en la evaluación del efecto del bioinsumo sobre el crecimiento *in vitro* de *Moniliophthora roreri*, entre dosis, a un nivel de confiabilidad del 95 % (Tabla 13)

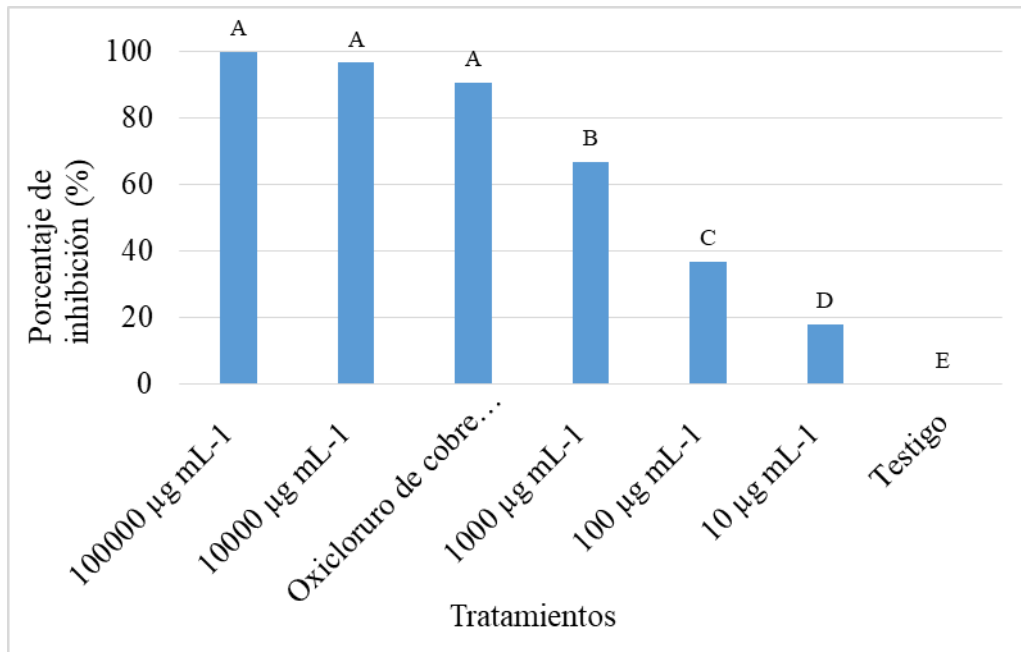
Tabla 13. Análisis de varianza para la evaluación del efecto del bioinsumo sobre el crecimiento *in vitro* de *Moniliophthora roreri*.

Tests de efectos fijos				
Efecto	Num DF	Den DF	F-Valor	Pr > F
Dosis	6	21	64.34	<.0001**

** : Altamente significativo ($p > 0,05$)

Tukey detecto diferencias entre las dosis de $100000 \mu\text{g mL}^{-1}$, $10000 \mu\text{g mL}^{-1}$ y el resto de los tratamientos a excepción del testigo comercial (oxicloruro de cobre). También se encontraron diferencias entre el grupo conformado por el testigo comercial y el bioinsumo en las dosis de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$, $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ y el testigo absoluto, donde el crecimiento de la colonia alcanzó en promedio 6,7 cm. La mayor inhibición se alcanzó con las dosis del bioinsumo de 100000 y $10000 \mu\text{g mL}^{-1}$ y el testigo comercial, con porcentajes de 100, 96.6 y 90.8 %, respectivamente (Figura 18).

Figura 18. Prueba de Tukey para comparación de medias en la evaluación del efecto del bioinsumo sobre el crecimiento *in vitro* de *Moniliophthora roreri*.



Letras diferentes indican diferencias estadísticas ($p > 0,05$)

En la Figura 19, se observa el progreso del producto biológico en cuanto a la inhibición del crecimiento de *M. roreri* desde la dosis de menor concentración a la mayor, porque a partir de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ es evidente la disminución en el diámetro de la colonia, hasta llegar a no desarrollarse el patógeno a $100000 \mu\text{g mL}^{-1}$. Es importante indicar que el control del patógeno logrado por el producto biológico, estadísticamente fue similar al dado por el producto químico, sin embargo, al comparar las medias, se obtuvo mayor control con el bioinsumo.

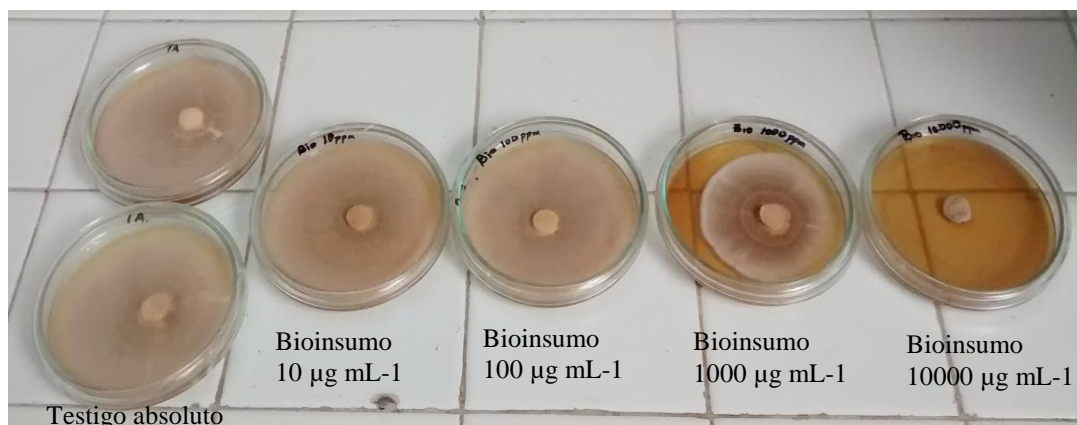


Figura 19. Efecto del bioinsumo sobre el crecimiento *in vitro* de *M. rozeri* a concentraciones de 10, 100, 1000, 10000 y 100000 µg mL⁻¹ (Muñoz, 2017).

Pantoja y Villota (2013), evaluaron un bioinsumo a partir de jugo de fique (*Furcraea* spp.) para el control del crecimiento y desarrollo de roya (*Hemileia vastatrix*) en café variedad caturra. El bioinsumo se valoró a concentraciones de 1000, 10000 y 100000 µg/ml para determinar el porcentaje de acción biocida de la roya, encontrándose que a 10000 µg/ml se observó un mejor control de la enfermedad en las hojas, sin afectar la planta; por lo tanto, los autores concluyeron que el bioinsumo puede ayudar al control de más de un patógeno, tanto para el cultivo de café como para otros cultivos agrícolas.

La elaboración y evaluación de un biofungicida a partir de jugo de fique, para el control de la gota (*Phytophthora infestans*), fueron realizadas por Rojas (2008). En esta investigación se comprobó la propiedad antimicrobiana del extracto de fique sobre el oomicete, con una efectividad igual a la ofrecida por el fungicida sintético, concluyendo que posiblemente la actividad fungicida se debe al contenido de saponinas, alcaloides y flavonoides presentes en el jugo, así mismo, manifiesta el potencial del biofungicida para el control de la gota.

Los resultados anteriores, exponen el potencial que tiene el jugo de *Furcraea* sp., que generalmente es residuo derivado de la utilización agroindustrial del fique, como un componente en la elaboración de biofungicidas para el control de enfermedades en diferentes cultivos de

importancia comercial, con la obtención de muy buenos resultados, como se muestra en el bioinsumo evaluado en esta investigación.

En el trabajo efectuado por Moreta (2015), se midió la actividad antifúngica de los extractos de latex de sande (*Brosimum utile*) sobre *M. roreri*, con buenos resultados. El mismo autor afirmó que los metabolitos secundarios del látex tienen actividad biológica frente a los fitopatógenos de la monilia del cacao y se podría utilizar como una alternativa ecológica al manejo de enfermedades del cacao.

Guaca y Vega (2018) analizaron el efecto de un biopreparado formulado con agua, ceniza y jabón no detergente para el control de fumagina (*Capnodium mangiferae*) en cultivo de mango “Tommy Atkins”, en tres porcentajes de concentración (5%, 10%, 15%), siendo la variable medida la severidad de la enfermedad. Como resultados se obtuvo que la concentración del producto del 5% logró disminuir considerablemente el grado de incidencia y severidad de la enfermedad.

La actividad antifúngica de los aceites esenciales de *Artemisia herba-alba*, *Artemisia absinthium* y *Mentha longifolia* sobre hongos fitopatógenos y de post-cosecha fue evaluada, con el fin de obtener un biofungicida botánico respetuoso con el medioambiente y de bajo riesgo; encontrándose que los aceites tuvieron un buen desempeño en cuanto a la inhibición del crecimiento micelial de los patógenos, poniendo en manifiesto el gran potencial del aceite esencial de *Mentha longifolia* para el control de los hongos, pudiendo ser una alternativa sólida a los agroquímicos (Torres, 2017).

Finalmente, el desarrollo de nuevos bioplaguicidas y productos antimicrobianos estimula la modernización de la agricultura y sin duda, va a reemplazar gradualmente a una cantidad de los plaguicidas químicos. En la producción agrícola, en ambientes libres de contaminación, los bioplaguicidas son sustitutos ideales para sus homólogos químicos tradicionales (Leng *et al.*, 2011). Además, los productos vegetales son muy eficaces, menos costosos, biodegradables y más seguros que sus equivalentes sintéticos, los cuales son altamente persistentes en el medio ambiente y tóxico para otros organismos (Leng *et al.*, 2011).

5.4.1 Determinación de la DMI (Dosis Mínima Inhibitoria) del bioinsumo.

Al no haber diferencias significativas entre las dosis de 100000 y 10.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ y teniendo en cuenta que a 10000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ya no hubo desarrollo del hongo, se decidió evaluar concentraciones menores a esta (1500, 2500, 5000 y 7000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) para establecer la concentración mínima inhibitoria (DMI) a la que el bioinsumo limita el crecimiento del patógeno en más 95%.

El análisis de varianza para la evaluación del efecto del bioinsumo sobre el crecimiento *in vitro* de *Moniliophthora roreri*, a concentraciones de 1500, 2500, 5000 y 7000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ detecto diferencias altamente significativas entre dosis, a un nivel de confiabilidad del 95 % (Tabla 14).

Tabla 14. Análisis de la varianza del ensayo para determinar la dosis mínima de inhibición a 1500, 2500, 5000 y 7000 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Inhibición	24	0,89	0,86	21,67

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	22795,55	5	4559,11	28,38	<0,0001
Dosis	22795,55	5	4559,11	28,38	<0,0001
Error	2891,71	18	160,65		
Total	25687,25	23			

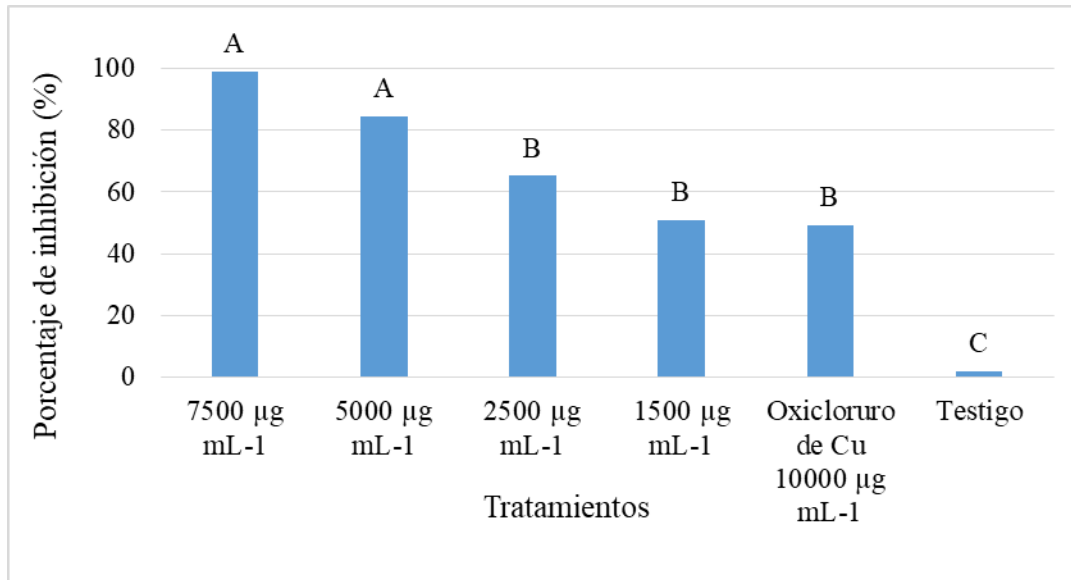
Altamente significativo ($p > 0,0001$)

Duncan detecto diferencias entre el conjunto formado por las dosis de 7500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ y 5000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, y el resto de los tratamientos; de igual manera, entre el grupo conformado por las dosis de 2500 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 1500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ y el testigo comercial (oxicloruro de cobre), en comparación con el testigo absoluto, donde la colonia de *M. roreri* alcanzo un diámetro de crecimiento en promedio de 8 cm (Figura 20).

La mayor inhibición se alcanzó con los tratamientos a 7500 y 5000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, con porcentajes de 99% y 84.5%, respectivamente. Entre 2500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (65,13%), 1500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (51%) y el testigo

comercial no hubo diferencias, aunque este solo alcanzo un porcentaje de disminución del crecimiento del *M. roreri* en 49.3% (Figura 20).

Figura 20. Prueba de Tukey para comparación de medias en la evaluación del efecto del bioinsumo sobre el crecimiento *in vitro* de *Moniliophthora roreri* a 1500, 2500, 5000 y 7000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, Oxidloruro de cobre a 10.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ y Testigo absoluto.



Letras diferentes indican diferencias estadísticas ($p > 0,05$)

Al no existir diferencias entre 7.500 y 5.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ y ser aun un rango amplio, se presumió que la dosis mínima de inhibición estaría entre estas concentraciones, por lo tanto, se efectuó un segundo ensayo, donde se consideraron evaluar concentraciones de 5500, 6000, 6500 y 7000 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

El análisis de varianza para la evaluación del efecto del bioinsumo sobre el crecimiento *in vitro* de *Moniliophthora roreri* a concentraciones 5500, 6000, 6500 y 7000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ detecto diferencias altamente significativas entre dosis, a un nivel de confiabilidad del 95 % (Tabla 15).

Duncan determino diferencias entre el conjunto formado por todas las dosis del bioinsumo y los testigos; así como, entre el testigo comercial (oxidloruro de cobre) y el testigo absoluto, donde el porcentaje de inhibición del producto químico fue de 53% y el crecimiento de la colonia en el

testigo absoluto alcanzo en promedio 6 cm. La inhibición del desarrollo de *M. roreri* estuvo por encima del 98% en todas las dosis evaluadas (Figura 21).

Tabla 15. Análisis de la varianza del ensayo para determinar la dosis mínima de inhibición a 5500, 6000, 6,500 y 7000 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Análisis de la varianza

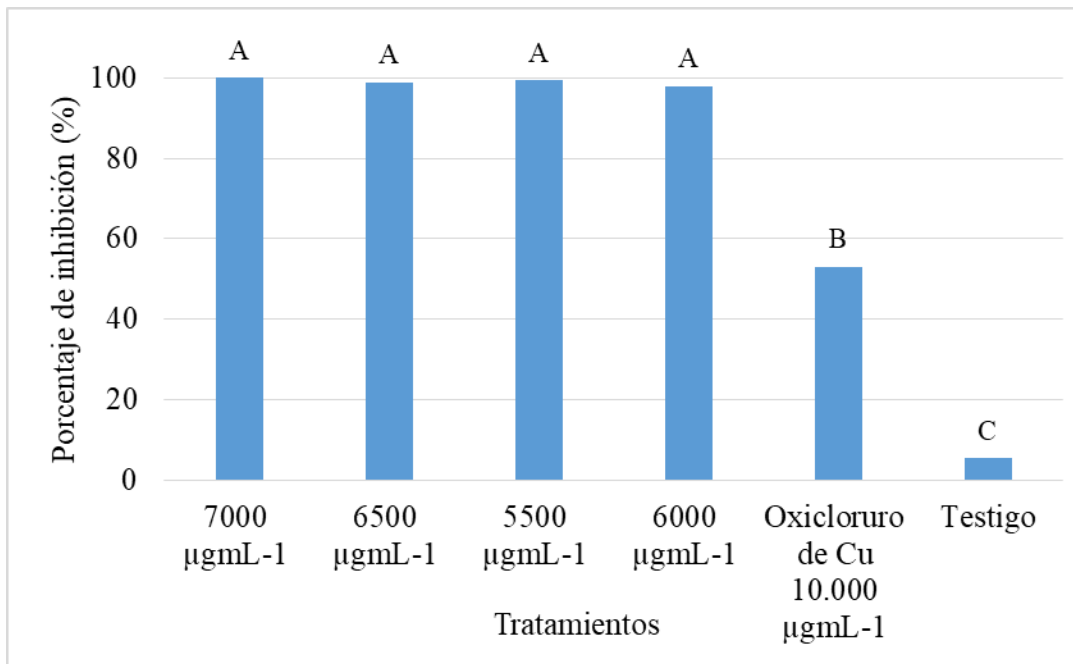
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Inhibicion2	24	0,93	0,91	14,82

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	30544,17	5	6108,83	48,56	<0,0001
Dosis	30544,17	5	6108,83	48,56	<0,0001
Error	2264,62	18	125,81		
Total	32808,79	23			

Altamente significativo ($p > 0,0001$)

Figura 21. Prueba de Tukey para comparación de medias en la evaluación del efecto del bioinsumo sobre el crecimiento *in vitro* de *Moniliophthora roreri* a 5500, 6000, 6500 y 7000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, Oxidloruro de cobre a 10000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ y Testigo absoluto.



Letras diferentes indican diferencias estadísticas ($p > 0,05$)

Se determinó que la dosis mínima inhibitoria (DMI) del bioinsumo sobre el crecimiento *in vitro* de *M. rorei*, agente causal de la moniliasis del cacao, está en la concentración de 5500 $\mu\text{g mL}^{-1}$, donde se alcanzó 98% de disminución en el desarrollo del patógeno, de acuerdo con lo indicado por Ramírez, (2013) y Álvarez y Delgado (2010).

Además, el control alcanzado por el bioinsumo, en todos los ensayos, fue superior al dado por el producto comercial (oxicloruro de cobre), convirtiéndolo de esta manera en una alternativa para el manejo de la moniliasis, que puede ser incluida en un plan de manejo integrado de la enfermedad, en miras a lograr una agricultura sostenible.

Conclusiones

- La presencia de algunos metabolitos secundarios como flavonoides, alcaloides, aldehídos y cetonas en gallinazo (*Tagetes zypaquerensis*), altamisa (*Ambrosia arborescens*), orégano de monte (*Lippia origanoides*), fique (*Furcraea* sp.) y borrachero rojo (*Brugmansia sanguínea*), son los que les confieren a estas especies actividad antifúngica sobre *M. Roreri*.
- Los extractos acuosos de *Furcraea* sp., *Tagetes zypaquerensis* y *Lippia origanoides* fueron los de mayor eficacia en inhibir *in vitro* el crecimiento micelial de *M. roreri*, donde *Furcraea* sp. fue el de mejor desempeño inhibiendo el desarrollo del patógeno hasta en 99%, siendo el control de los extractos a $100000 \mu\text{g mL}^{-1}$ superior al dado por el fungicida de síntesis química.
- Se verificó la capacidad antifúngica del bioinsumo elaborado de la mezcla de los extractos de *Furcraea* sp., *Tagetes zypaquerensis* y *Lippia origanoides* sobre el crecimiento *in vitro* de *M. roreri*, obteniendo un efecto similar al brindado por el testigo comercial (oxicloruro de cobre), por lo tanto, se concluye que este producto de origen biológico tiene potencial para ser utilizado en el manejo integrado de la moniliasis del cacao, previo su validación *in situ*.

Bibliografía

- Abad, M. Ansuategui, M. Bermejo, P. 2007. Active antifungal substances from natural sources. ARKIVOC. 7. 116-145 p.
- Acevedo, J. Serna, E. 2004. Optimización del proceso de extracción de material orgánico procedente de fique (*Furcraea* sp.) y observación del efecto biofungicida. Universidad Pontificia Bolivariana de Medellín. Facultad de ingeniería química e ingeniería agroindustrial. African Journal of Biotechnology. 10(86): 19864-19873 p.
- Agencia del gobierno de los Estados Unidos para el desarrollo internacional (USAID). 2010. Plantas medicinales y aromáticas una alternativa de producción comercial. 60 p.
- Aime, M., & Phillips, W. 2005. The causal agents of witches broom and frosty pod rot of Cacao (*Theobroma cacao* L) form a new lineage of Marasmiaceae. Mycología, 1012-1022 p.
- Alarcón J, Arevalo E, Díaz A, Rosero A. 2012. Manejo fitosanitario del cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.), medidas para la temporada invernal. Bogotá, Colombia. 43 p
- Albuquerque, P., Bastos, C., Luz, E., Silva, S. 2005. Doenças do cacauzeiro (*Theobroma cacao*) In: Kimati H. Amorim L. Rezende J.A. (eds) Man. Fitopatol. 4ta edición. Livroceres, Piracicaba, Brasil. 151 – 163 p.
- Alcaldía Municipal de Tumaco Plan de Ordenamiento Territorial 2008 – 2019. p 13.
- Alfonso, M., Villasana, R., Lorenzo, Y., Álvarez M., Pérez D. & Uranga H. 2005. Análisis fitoquímico de cinco plantas con actividad alelopática. Memorias XVII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas (ALAM). Varadero, Matanzas, p. 592 - 595.
- Altieri, M. & Toledo, V. 2010. La revolución agroecológica de América Latina: Rescatar la naturaleza, asegurar la soberanía alimentaria y empoderar al campesino. ILSA Bogotá, Colombia. 163 – 202 p.
- Álvarez, L. 2008. Borrachero, cacao sabanero o floripondio (*Brugmansia* spp.) un grupo de plantas por redescubrir en la biodiversidad latinoamericana. Universidad de Caldas. Cultura y droga. 13(15): 77-93 p.

- Álvarez, B. 2016. La etnobotánica. Breve historia de una ciencia interdisciplinaria. “De plantas, cultura e interdisciplinaridad. Etnobotánica”. Researchgate. 5 p.
- Álvarez, D., Botina, J., Ortiz C. & Botina L. 2016. Evaluación nematocida del aceite esencial de *Tagetes zypaquirensis* en el manejo del nematodo *Meloidogyne* spp. Revista de Ciencias Agrícolas. 33(1), 22 -33. Doi: <https://doi.org/10.22267/rcia.163301.3>
- Arbelaéz, L. 2010. Análisis de la diversidad intraespecie de (*Moniliophthora roreri* Cif) por medio de marcadores morfológicos y genéticos. Medellín, Antioquia, Colombia. Universidad Nacional. 12 p.
- Álvarez, L. 2014. Plantas promisorias de uso alimenticio del Darién, Caribe colombiano. Boletín de Antropología. Universidad de Antioquia, Medellín. 29 (48). 41-65 p.
- Álvarez, D. & Delgado, D. 2010 Sensibilidad in vitro de (*Phytophthora infestans*) al extracto de fique (*Furcraea gigantea* Vent) y fungicidas sistémicos. Universidad de Nariño, Pasto. Colombia. 34 p.
- Álvarez, N. 2007. Conocimientos indígenas y procesos de apropiación. Antioquia. Medellín. Revista Educación y Pedagogía. 19 (49). 119 – 128 p.
- Ampuero, C.E. 1967. *Monilia pod rot* of cocoa. Cocoa grower’s bulletin. 9. 15-17.
- Arango, O., Pantoja, D., Santacruz, L., Hurtado, A. 2012. Actividad antioxidante del aceite esencial de orégano (*Lippia origanoides* H. B. K) del alto Patía. Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial. 10 (2). 79 – 86 p.
- Arboleda, F., Guzmán, O., Mejía L., 2012. Efecto de los extractos cetónicos de higuierilla (*Ricinus communis* Linneo.) sobre el nematodo Barrenador (*Radopholus similis* (Cobb.) Thorne) En condiciones *in vitro*. Universidad de Caldas. Caldas Luna Azul ISSN 1909-2474. 47p.
- Arcila, C.C., Loarca, G., Lecona, S., González, E. 2004. El orégano: propiedades composición y actividad biológica de sus componentes. Arch. Latin. Nutr. 54: 1-25.
- Arguedas, M., Hilje, L., Cartín, V., Calvo, M., Borbón, H. 2018. Fagodisuasión de extractos de *Brugmansia candida* (Solanaceae) en larvas de *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae). Revista de biología tropical. ISSN-0034-7744) Vol. 66(1): 58-69 p.

- Arvelo, M. González, L. Maroto, S. Delgado, T. Montoya, P. 2017. Manual técnico del cultivo de cacao, Prácticas Latinoamericanas. IICA. ISBN: 978-92-9248-732-4. 165 p.
- Arvelo, M., Delgado, T., Maroto, S., Rivera, J., Higuera, I., Navarro, A. 2016. Estado actual sobre la producción y el comercio del cacao en América. Costa Rica. ISBN: 978-92-9248-617-4. 79 p.
- Asociación Cámara Nacional del Cacao Fino de Costa Rica (CANACACAO). 2018. Revisión del mercado del cacao. Recuperado de: <https://canacacao.org/revision-del-mercado-del-cacao-mayo-2018/>.
- Asociación para el desarrollo campesino (ADC), Concejo de comunas campesinas de Montufar CCM y la asociación Shaquiñan. 2012a. Conocimiento ancestral indígena en salud animal. 53 p.
- Asociación para el desarrollo campesino (ADC), Concejo de comunas campesinas de Montufar CCM y la asociación Shaquiñan. 2012b. Prácticas agroecológicas en el nudo de los Pastos. Cumbal, Nariño, Colombia. 31 p.
- Bacca, D. 2012. Estudio fitoquímico del jugo de Fique de las especies negra común (*Furcraea gigantea*) y ña de águila (*Furcraea macrophylla*) de los municipios de el Tambo y Guaitarilla (Nariño). Trabajo de grado. Universidad de Nariño. Colombia. 145 p.
- Baldeón, X. 2011. Actividad insecticida de los aceites esenciales de *Tagetes minuta*, *Tagetes terniflora* y *Tagetes zipaquirensis* sobre *Premnotrypes vorax*. Escuela superior politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. 131 p.
- Barrera, N. & Bautista, B. 2008. Actividad antifúngica de polvos, extractos fracciones de *Cestrum nocturnum* L. sobre el crecimiento micelial de (*Rhizopus stolonifer* Ehrenb.: Fr.) Vuill. Revista Mexicana de Fitopatología 26 (1). 27-31p.
- Barros, N. 1980. Historia de la moniliasis y sus repercusiones en los países productores de cacao en Sudamérica. EN: Enríquez, G.A. (edit.) 1982. La moniliasis del cacao. CATIE. Costa Rica. Serie técnica: informe técnico no. 28. 14-17 p.
- Beltrán, G. 2015. Conocimiento tradicional y los modos de transmisión de saberes alrededor de las plantas medicinales en la comunidad de Macaquiño (Zona Aatiam, territorio del Vaupés). Universidad Nacional de Colombia. 205 p.

- Benavides, J. 2011. Caracterización química del aceite esencial presente en las hojas de altamisa (*Ambrosia arborescens* Miller) por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas y determinación de su capacidad antioxidante. Trabajo de grado. Programa de química. Universidad de Nariño. Colombia. 95 p
- Benavides, O., Arango, O., Hurtado, A., Rojas, M. 2012. Cuantificación de Sapogeninas del Jugo Fresco y Fermentado de Fique (*Furcraea gigantea*) mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC-PDA). Información Tecnológica, 23(3), 67-76 p.
- Bermúdez, A., Oliveira, M. y Velázquez, D. 2005. La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: Una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. Asociación intercienca Venezuela. 30 (8). 453-459p.
- Bittara F, Rodríguez D, Sanabria M, Monroy J, Rodríguez J. 2009, Evaluación de fungicidas y productos vegetales en el combate de la sarna polvorienta de la papa. ResearchGate, (34) 4. 6 p.
- Cabildo Indígena de Tuquerres. 2009. Plan de vida para el resguardo indígena de Tuquerres. 189 p.
- Cabrera, R., Morán, J., Mora, B., Manuel Molina, H., Moncayo, O., Ocampo, E., Meza, G., Cabrera, C. 2016. Evaluación de dos insecticidas naturales y un químico en el control de plagas en el cultivo de frejol en el litoral ecuatoriano. IDESIA chile Volumen 34, N° 5. 27-35 p.
- Cáceres, H.F., V.A. García, Ponce, H. 2000. Plantas biocidas de la Provincia de Arequipa. Resúmenes del VIII Congreso Nacional de Botánica, Arequipa. Abril 24-28, Universidad Nacional San Agustín, Arequipa, Perú.
- Cadby, P., Troy, W., Vey, M. 2002. Consumer exposure to fragrance ingredients: Providing estimates for safety evaluation. Regulatory toxicology and pharmacology. 36 (3) 246-252. Doi: 10.1006/rtp.2002.1581
- Camarera, M. 2005. Proyecto de comercialización de orégano seco a la Unión Europea. CONAFOR. México. 46 p.
- Cano, T. 2014. Caracterización de una espirolactona sesquiterpénica á-metilénica obtenida de *Ambrosia arborescens* Miller y evaluación de su actividad biológica en *Tripanosoma cruzi*. 80 (2). 124 – 135 p.

- Cárdenas, C. 2014. Las Plantas alelopáticas. Universidad de las fuerzas Armadas – ESPE. 204 p. Quito Ecuador. ISBN: 978-9978-301-37-1
- Cardona B. 2009. Consejo Nacional Cacaotero, Acuerdo 003, clones para cacao en Colombia. Bogotá. Recuperado de [http //www.huila.gov.co/documentos/agricultura /CADENAS%20PRODUCTIVAS/CLONES%20DE%20CACAO%20PARA%20COLOMBIA.pdf](http://www.huila.gov.co/documentos/agricultura/CADENAS%20PRODUCTIVAS/CLONES%20DE%20CACAO%20PARA%20COLOMBIA.pdf)
- Camarillo, G., D. Ortega., L., Serrato, M., Rodríguez, H. 2009. Actividad biológica de *Tagetes filifolia* (Asteraceae) en *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae), 35(2). 177-184p.
- Casas, A., Parra, F., Blancas, J., Rangel, S., Mariana, L., Vallejo, M., Julia F. & Moreno, A. 2016. Origen de la domesticación y la agricultura: cómo y por qué. En: Casas, A. Guevara, J. & Parra, F. Domesticación en el continente americano. Primera edición. México D.F (1) 189-224 p.
- Casierra, F., Gómez. N. 2008. Crecimiento foliar y radical en plantas de fique (*Furcraea castilla* y *Furcraea. macrophylla*) bajo estrés por encharcamiento Agronomía Colombiana 26(3), 381-388 p.
- Castaño, J.J. 1952. Moniliasis del cacao en una región del departamento de Caldas. Agricultura Tropical (Colombia). 8 (6): 21-2 p
- Castaño, J. & Del Río L. 1997. Manual para el diagnóstico de hongos, bacterias, virus y nematodos fitopatógenos. 1ed. Manizales. Centro Editorial Universidad de Caldas. 210 p.
- Castañeda, M., Muñoz, A., Stashenko, E. 2007. Estudio de la composición química y la actividad biológica de los aceites esenciales de diez plantas aromáticas colombianas. Scientia Techn. 33: 165-166.
- Celis, A., Mendoza, C., Pachon, M. 2009. Revisión: uso de extractos vegetales en el manejo integrado de plagas, enfermedades y arvenses. Temas agrarios. 14 (1). 5 – 16.
- Chalchat, C., Maksimović, A., Petrović, D., Gorunović, S. y Dordevic, M. 2004. Chemical composition and antimicrobial activity of *Ambrosia artemisiifolia* L. essential oil. Journal of Essential Oil,
- Compañía Nacional de Chocolates. 2011. Guía Para el Cultivo de Cacao. 4-12 p.

- Corporación autónoma regional de Nariño (CORPONARIÑO). 2010. Identificación de especies medicinales silvestres promisorias y sus usos alternativos. 68 p.
- Cruz, P. 2009. Elaboración y control de Calidad del Gel Antimicótico de Manzanilla (*Matricaria chamomilla*), Matico (*Aristiguietia glutinosa*) y Marco (*Ambrosia arborescens*) para Neo-Fármaco. Escuela Superior de Chimborazo Facultad de Ciencias Escuela de Bioquímica y Farmacia, Riobamba, Ecuador. 150 p.
- Duke, J. A. 2002. Handbook of Medicinal Herbs. CRC Press. USA. ISBN 9780849312847. 123- 870 p.
- De la Cruz, R., Espinoza, L., García, O., Pérez, P., 2016. Actividad antifúngica *in vitro* del extracto acuoso y alcaloideo de *Lupinus* spp. sobre *Moniliophthora roreri*. Agroproductividad. Tabasco, Mexico. Vol. 9, Núm. 12, p: 3-9.
- Deberdt, P., Mfegue, C., Tondje P. BonM. Ducamp M. Hurard C. Begoude D. Ndoumbe, M. Hebbar P, Cilas C. 2008. Impact of environmental factors, chemical fungicide and biological control on cacao pod production dynamics and black pod disease (*Phytophthora megakarya*) in Cameroon. Biological Control. 44(2). 149-159 p.
- Díaz, C. 2012. Análisis florístico y fitogeográfico de la cuenca baja del cañón del río Suárez, (Santander, Colombia). Trabajo de grado. Universidad nacional de Colombia. Bogotá. 153 p.
- Díaz, F., Serrato, M., Arce, M., León, J. 2012. Composición del aceite esencial de *Tagetes lacera*, planta endémica de Baja California del Sur, México. Revista Mexicana de Biodiversidad. 83. 543 - 547.
- European Commission Health & Consumer Protection. 2004. Plant health, animal health and welfare. EEUU. 12p
- Escobar, E. 2018. Identificación molecular de las especies del género *Brugmansia* (Solanaceae), presentes en la zona norte de los Andes del Ecuador. 95 p.
- Escobar, P., Herrera, L., Leal, S., Durán, C. & Stashenko, E. 2014. Composición química y actividad anti- tripanosomal de aceites esenciales obtenidos de *Tagetes* (Fam. *Asteraceae*), recolectados en Colombia. Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud. 41 (3). 280 – 286 p.

- Evans, H. 1981. Pod rot of Cacao caused by *Moniliophthora roreri*. by Phytopathological Pappers N^a 24. Kew, England. Commonwealth Mycological Institute 44 p.
- Evans, H., Holmes, K. & Thomas, S. 2003. Endophytotes and mycoparasites associated with an indigenous forest tree, *Theobroma gileri*, in Ecuador and a preliminar assessment of their potencial as biological agents of cocoa diseases. *Mycological Progress*, 149-160 p.
- FEDECACAO (Federación Nacional de Cacaoteros). 2010. El cacao un ganador de la administración Uribe. Colombia cacaotera. Colombia. 23 p.
- FEDECACAO (Federación Nacional de Cacaoteros). 2014. Producción nacional registrada de cacao en grano por departamento 2002–2014. Recuperada de <http://www.fedecacao.com.co/portal/index.php/es/2015-02-12-17-20-59/nacionales>
- Gálvez, C. 2015. Saberes locales en el mundo global. Huertas, agua y conocimiento agroecológico en la Alpujarra Alta Occidental. Trabajo de grado. Universidad Pablo Olavide. 442 p.
- García. A., Pérez, E., Carril. U. 2009. Metabolismo secundario de plantas. Serie Fisiología Vegetal. 2 (3). ISSN: 1989-3620. 119-145 p.
- Gómez, A. 2002. Plant use Knowledge of the Winikina warao: the case for questionnaires. *Ethnobotany Economic Botany*. Nueva York. 56 (3). 231-241p.
- Gómez, M. & Vanegas, E. 2001. Evaluación de la producción de esteroides a partir del jugo de fique con *Cunninghamella* spp. Universidad Pontificia Bolivariana de Medellín. Facultad de ingeniería química. 7 p.
- Gómez, E. & Gómez, G. 2006. Saberes tradicionales agrícolas indígenas y campesinos: rescate, sistematización e incorporación a la idea. *Revista de sociedad, cultura y desarrollo sustentable; Ra Ximhai*. 2 (1). 97 – 126 p.
- Gonzales, A. & Roble, A. 2014. Aislamiento y caracterización del hongo *Moniliophthora Roreri* (Monilia) en frutos de *Theobroma cacao* L. (cacao) del cultivar San José del Real de la Carrera, Usulután. Universidad del Salvador. 17p.
- Grainge, M. & S. Ahmed. 1988. Handbook of plant with pest-control properties. John Wiley and sons, Nueva York. 470 p.

- Guaca, J & Vega, O. 2018. Evaluación de biopreparado para el control de Fumagina (*Capnodium mangiferae* Cooke & Brown) el cultivo de mango “Tommy Atkins” (*Mangifera indica*) en Elías Huila. Proyecto de Investigación como Opción de Grado para Optar por el Título de Agrónomo. Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD. 45p.
- Guerrero, A. 2012. evaluación de aceites esenciales de *Lippia origanoides* en el control de hongos fitopatógenos (*Fusarium* sp., y *Colletotrichum* sp.) en el cultivo de ají cayena *Capsicum annuum*. Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia. Palmira. 79 p.
- Guerrero, A. 2008. Los recursos vegetales en una comunidad Rarámuri: aspectos culturales, económicos y ecológicos. Universidad Nacional Autónoma de México. 212 p.
- Gullino, L., Leroux, P., Smith, C. 2000. Uses and challenges of novel compounds for plant disease control. Crop Protección. 19 (1). 1-11p. Doi:[https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(99\)00095-2](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(99)00095-2)
- Gupta MP. 1995. 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas. Convenio Andrés Bello CYTED. 1ed. Santa Fe de Bogotá, 617 p.
- Gurjar, M. Ali, S. Akhtar, M. Sing, K. 2012. Efficacy of plant extracts in plant disease management. Agricultural Sciences. 3 (3): 425 433 p.
- Herbario Universidad Nacional de Colombia. 2007. *Theobroma cacao* L. Recuperado de: <http://www.biovirtual.unal.edu.co/es/colecciones/detail/6140/>
- Hernández, A., Bautista, S., Velázquez, M. 2007. Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. Revista Fitotecnia Mexicana. 30 (2): 119 – 123 p.
- International cocoa Organization – ICCO. 2011. Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics. 37 (4) Cocoa year 2010 - 2011. Publicado: 30-11-2011
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). 2017. Manual técnico del cultivo de cacao: practicas latinoamericanas. San José de Costa Rica. 143 p.
- Jaimes Y. & Aránzazu F. 2010. Manejo de las enfermedades del cacao (*Theobroma cacao* L.) en Colombia, con énfasis en monilia (*Moniliophthora roreri*). Corpoica. Colombia. 90 p.

- Kagale, S. Marimuthu, T. Thayumanavan, B. Nandakuman, R. & Samiyappan, R. 2004. Antimicrobial activity and induction of systemic resistance in rice by leaf extract of *Datura meto* against *Rhizoctonia solani* and *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 65(2). 91-100 p
- Kintzios, E. 2002. *Oregano, The genera Origanum and Lippia*. First ed. Taylor and Francis. Agricultural University of Athens. 267 p.
- Kordali, S. Kotan, R. & Cakir, A. 2007. Screening of in vitro antifungal activities of 21 oxygenated monoterpenes as plant disease control agents. *Allelopathy Journal*. 19 (2). 373-392 p.
- Lee, H. 2007. Fungicidal property of active component derived from *Acorus gramineus* rhizome against phytopathogenic fungi. *Bioresource Technology*. 98 (6). 1324-1328 p. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.05.018>
- Lee, O. Choi, J. Jang, S. Lim, K. Cho, Y. Kim, C. 2007. Antifungal activity of five plant essential oils as fumigant against postharvest and Soilborne Plant Pathogenic Fungi. *Plant Pathol. J.* 23 (2). 97-102 p.
- Leng, P., Zhang, Z., Pan G., Zhao, M. 2011. Applications and development trends in biopesticides. *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(86), pp. 19864-19873 ISSN 1684-5315
- Lizcano, M. 2007. Evaluación de la actividad antifúngica del extracto de tomillo (*Thymus vulgaris*) contra *Botrytis* cinérea, *Fusarium oxysporum* y *Sclerotinia sclerotiorum*. Trabajo de grado. Pontificia Universidad Javeriana. 71 p
- Lojan, L. 1992. "El verdor de los Andes. Árboles y Arbustos Nativos Para universidad de cuenca facultad de filosofía, letras y ciencias de la educación María Cristina Palacios Jaramillo /2010 el Desarrollo Forestal Altoandino". Quito. Ecuador. 53 p
- López, 2004. Los aceites esenciales. Aplicaciones farmacológicas, cosméticas y alimentarias. *Ambito Farmaceutico-Fitoterapia*. 23 (7). 88 – 91 p.
- Lopez, A., Velez, M., Sanchez, O, & Bonilla, P. 2006. Evaluación de extractos vegetales para manejo de hongos patógenos en banano y fresa almacenados. *Acta agronómica*, 55(4).

- López B. 2008. Toxicidad volátil de monoterpenoides y mecanismos bioquímicos en insectos plaga del arroz almacenado. Universidad de Murcia. 246 p.
- Marei, G.; Rasoul, M.; y Abdelgaleil, S. 2012. Comparative antifungal activities and biochemical effects of monoterpenes on plant pathogenic fungi. *Pesticide Bioch. Physiol.* 103:56-61 p.
- Melina, N. 2001. Uso de extractos botánicos en el control de plagas y enfermedades. Avances en el fomento de productos fitosanitarios no sintéticos. Manejo Integrado de Plagas. CATIE, San José. 56-59 p.
- Mine, S. Soyly, S. & Kurt, S. 2006. Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora Infestans* *Mycopathologia* 161(2). 119 – 128 p.
- Ministerio de Agricultura. 2018. Cadena de cacao Indicadores e Instrumentos Enero 2018. Recuperado de: <https://sioc.minagricultura.gov.co/Cacao/Documentos/002%20%20Cifras%20Sectoriales/002%20-%20Cifras%20Sectoriales%20%202018%20Enero%20Cacao.pdf>
- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Ministerio de Economía y Competitividad y Ministerio de Asuntos Exteriores y Cooperación. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. El Tratado Internacional sobre los recursos Fitogénéticos para la Alimentación y la Agricultura. Fondo Nacional para el Desarrollo Agrícola Bioersity internacional. Cropsor the Future y Slow Food International. Real Academia Española de Gastronomía gobierno Andaluz. El Ceia3. La Diputación, Universidad y Ayuntamiento de Córdoba, y la Cátedra de estudio sobre Hambre y Pobreza como anfitrión. 2012. Declaración de Córdoba sobre cultivos Promisorios para el siglo XXI. España. 8p
- Montes B. R. 2009. Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de Micología.* 29. 73-82 p.
- Nava, P. García, C. Camacho, J. Vázquez, E. 2012. Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. México. *Revista de Sociedad, cultura, y desarrollo sustentable - Ra Ximhai.* Vol 8 (3b) 17 – 29 p.
- Obledo, E. Hernández, S. & López, M. 2004. Extractos vegetales, una opción en el control de la *Sigatoka* negra. XVI Reunión Internacional ACORBAT. Oaxaca. 184 p.

- Ojeda, A. 2006. Medicina tradicional en el resguardo indígena de Panan, municipio de Cumbal, departamento de Nariño - Colombia. Universidad de Nariño. 146 p.
- Osbourn, A. 1999. Antimicrobial Phytoprotectants and Fungal Pathogens: A Commentary. Review. Fungal Genetics and Biology 26. 163 –168 p.
- Martínez, M. Pacheco, C. 2006. Protocolo para la micropropagación de *Furcraea macrophylla* Baker. Agronomía Colombiana. 24(2): 207-213 p.
- Minga, D. 2000. “Árboles y Arbustos del bosque de Mazán. Tomo II”. E.T.A.P.A. Cuenca. Ecuador. 108 p.
- Moncayo, N. 2015. Laguna de la cocha su gente y sus plantas. Universidad Mariana. Pasto. Colombia. 156 p.
- Montoya G., Julian, L., Lina, Y., Vásquez, G., Rojas, M., Ramirez, R., 2007. Monoterpenos aromáticos timol y carvacrol: Aproximaciones de su posible papel en procesos claves de la patología cardiovascular. Scientia et Technica, XIII (No 33). UTP. ISSN 0122-1701
- Muedas, G. 2006. Estudio químico de las hojas del toe (*Datura sanguinea* (R. & P.) D. Don). Trabajo de grado. Universidad Nacional de ingeniería. Lima – Perú. 138 p.
- Muñoz, A. y Quiroz, S. 2005. Identificación de productos forestales no maderables de algunas especies nativas en la reserva natural Biotopo selva húmeda, corregimiento el Diviso, municipio de Barbacoas-Nariño. Pasto. 122 p.
- Moreta, A. 2015. “Evaluación de la actividad antifúngica en *Moniliophthora roreri* de frutos de cacao (*Theobroma cacao* L) de extractos de látex de sante de *Brosimum utile kunth*”. Trabajo de grado. Riobamba, Ecuador. Escuela superior politécnica de Chimborazo. 96 p.
- Ojeda, A. 2010. Medicina tradicional en el resguardo indígena de Panan, municipio de Cumbal, departamento de Nariño - Colombia. Pasto Colombia: UDENAR. 122 p.
- Ordoñez, R. Pérez, M. Quiroz, C. 2004. Estudio de la biodiversidad no cultivada en las cuencas altas de los ríos Guamuez y Pasto. Revista de Ciencias agrícolas. Universidad de Nariño. Colombia. 21 (1 y 2). 39 – 49 p.

- Osorio, S. Valverde, F. Bonilla, C. Sánchez, O. y Barona, M. 2012. Evaluación de extractos de fique, coquito, sorgo y ruda como posibles bio-herbicidas. México. D.F. 169913325007
- Pantoja, H. & Villota, J. 2013. Evaluación de un bioinsumo a partir del jugo del fique (*Furcraea* spp.) para el control de la roya (*Hemileia vastatrix*) en la café variedad caturra. Ingeniería de procesos. Universidad Mariana. Pasto, Colombia. 9 p.
- Phillips M, & Aime, W. 2007. Biodiversity and biogeography of the Cacao (*Theobroma cacao*) pathogen *Moniliophthora roreri* in tropical America. *Plant Pathology*. 911-922 p.
- Philogene, B.; Regnault-Roger, C. y Vincent C. 2004. Productos fitosanitarios insecticidas de origen vegetal: promesas de ayer y de hoy. En: Regnault-Roger, C.; Philogene, B. y Vincent, C, (Ed). *Biopesticidas de Origen Vegetal*. Ediciones Mundi Prensa, Madrid. 18 p.
- Pino, N. y H. Valois. 2004. Ethnobotanical of four black communities of municipality of Quibdó, Choco-Colombia. *Lyona a Journal of Ecology and Application*. 7(2). 61 – 69 p.
- Pino. G.I. 2006. Estado actual de las suculentas en el Perú. *Zonas Áridas*, vol. 10, pp. 155- 173.
- Ploeg, T. 2000. Effects of amending soil with *Tagetes patula* cv. Single gold on *Meloidogyne* sp, infestation of tomato. *Nematology*. 2. 289 – 493 p.
- Ponce, R. 2015. Manejo de enfermedades en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L), considerando parámetros epidemiológicos que permitan reducir el uso de fungicidas. Universidad técnica estatal que Quevedo. Quevedo Ecuador. 62 p.
- Portafolio. 2018. Producción de cacao colombiano creció 6,6 % en 2017. Recuperado de: <https://www.portafolio.co/economia/produccion-de-cacao-colombiano-crecio-6-6-en-2017-513611>.
- Programa para el Desarrollo de la Amazonía (PROAMAZONIA). 2003. Caracterización de las zonas productoras de cacao en el Perú y su competitividad. Lima, Perú. 208 p.
- Proyecto de Mejoramiento de Ingresos y Empleo para Productores y Productoras de Cacao en Honduras (PROCACAO). 2017. Control de moniliasis del cacao a través de prácticas culturales. *Infocacao*. No 12. 4 p.

- Purdy, L. Schmidt, R. 1996. Status of cacao witches' broom: biology, epidemiology and management. *Annu. Rev. Phytopathology*. 34. 573–594 p.
- Puenguenan, J. Sánchez, C. Quiroz, C. 2018. Evaluación de la capacidad antifúngica de los extractos acuosos de *Gliricidia sepium* Jacq. y *Capsicum annum* L., sobre el crecimiento in vitro de *Moniliophthora roreri* (cif.), agente causal de la moniliasis del cacao (*Theobroma cacao* L.). Libro de memorias. IV Congreso Internacional de Biotecnología y Biodiversidad 2018 IV CIBB2018 Primera Edición. 201 p.
- Ramírez, S., López, O., Guzmán, T., Munguía, S. & Espinosa, S. 2010. Actividad antifúngica in vitro de extractos de *Origanum vulgare* L., *Tradescantia spathacea* Swartz y *Zingiber officinale* sobre *Moniliophthora roreri* (Cif & Par). *Tecnología en marcha*. 24 (2). 3 – 17 p.
- Ramírez. G. 2008. La moniliasis un desafío para lograr la sostenibilidad del sistema cacao en México. *Tecnología en Marcha*. Instituto Tecnológico de Costa Rica. 21(1) 2008. 97 -110 p.
- Ramírez, S. 2013. Efectividad de extractos vegetales en el manejo de la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) de Cacao (*Theobroma cacao*) en México. Universidad Nacional de Costa Rica. Costa Rica. 162p.
- Rengifo. 2014. Extranjerización de la tierra en Colombia. Disponible en: file:///G:/Nuevos%20Muñoz/Rengifo,%202014.%20MINDALA_%20Extranjerización%20de%20la%20Tierra%20en%20Colombia.html.
- Regnault, C. 2004. Nuevos insecticidas para el tercer milenio. En: *Biopesticidas de origen vegetal*. Ediciones Mundiprensa, Madrid.19-40 p.
- Riveros, F., Sotomayor, R., Rivera, V., Segor, G. & Espinoza, B. 2003. Resistencia de *Phytophthora infestans* (Montagne) de Bary a Metalaxyl en cultivos de papa en el norte de Chile. *Agricultura técnica*. 63 (2). 117– 124 p
- Robayo, D. & Rodríguez, Y. 2006. Determinación de la actividad alelopática de extractos de *Swinqlia glutinosa* Murray y *Piper aduncum* L., sobre germinación de semillas de arvenses. Universidad de Cundinamarca, Fusagasugá. 84 p.
- Rojas, F. Sacristán, J. 2013. Guía ambiental para el cultivo de cacao. Segunda edición. Colombia. 127 p.

- Rojas, M. 2008. Caracterización fisicoquímica del jugo de fique (*Furcraea* spp.), elaboración y evaluación de un biofungicida útil en el control agroecológico de la gota (*Phytophthora Infestans*) en la papa. Facultad de Ingeniería Agroindustrial, Universidad de Nariño. San Juan de Pasto. 86 p.
- Rojas, M. y Luque, E. (2012). Biofungicida a partir del jugo de fique (*Furcraea spp.*) y evaluación de su efectividad sobre la gota (*Phytophthora infestans*) en el cultivo de papa (*Solanum Tberosum*). Revista Educación en Ingeniería. Pasto.
- Rodríguez, H. C. & D. Nieto. 1997. Anonáceas con propiedades insecticidas. en Anonáceas, produção e mercado (pinha, graviola, atemóia e cherimólia). Ed. : Rebouças São Jose, A., I. Vilas Boas, O, Magalhaes, R. Hojo. Bahía Brasil
- Rodríguez, M., Alcaraz, L., Real, S. 2012. Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. México D.F. Primera edición. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, Baja California Sur. 38 p.
- Rodríguez, E. & Medina, J. 2005. Caracterización de clones de cacao por respuesta a Monilia, *Moniliophthora roreri* (Cif), en Santander. Fitopatología Colombiana (28) 2. 45-51 p.
- Romagnoli C., Bruni C., Andreotti E. 2005. Chemical characterization and antifungal activity of essential oil of capitula from wild, *Tagetes patula* L. Protoplasma, India Springer-Verlag 225: 57–65 p.
- Ruiz, J. 2014. Cacao y su aporte al desarrollo colombiano. Universidad militar nueva Granada. Bogotá, Colombia. 20 p.
- Ruiz, C., Tunarosa, F., Martínez, J., Stashenko, E. 2007. Estudio comparativo por GC-MS de metabolitos secundarios volátiles de dos quimiotipos de *Lippia origanoides* H.B.K, obtenidos por diferentes técnicas de extracción. Scientia Techn. 33: 325-328 p.
- Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA). 2004. Introducción a la industria los aceites esenciales de plantas medicinales y aromáticas. Colombia. 33 p.
- SHAQUIÑAN. 2010. Plan de gestión territorial en el nudo o waka de los pastos, un territorio sagrado. Ipiales. Nariño. Colombia. 36 p.
- SHAQUIÑAN. 2011. Innovación, desarrollo tecnológico y aplicación del conocimiento andino para la promoción de la agricultura sostenible en cinco resguardos indígenas del

pueblo pasto en el departamento de Nariño. Segunda edición. Ipiales, Nariño, Colombia. 80 p.

- Sánchez, O., Medellín M., Aldana, A., Goettss B., Soberon, J., 2007. Método de Evaluación del Riesgo de Extinción de las Especies Silvestres en México. Instituto Nacional de Ecología, 164 91-107 p.
- Sánchez, L. Gamboa E. y Rincón, J. 2003. Control químico y cultural de la moniliasis (*Moniliophthora roreri* Cif & Par) del cacao (*Theobroma cacao* L) en el estado Barinas Venezuela Rev. Facultad de Agronomía. ISSN 0378-7818. 188 p.
- Segovia, I. & Suárez, L. 2010. Composición química del aceite esencial de *Tagetes elliptica* Smith “Chincho” y determinación de su actividad antioxidante, antibacteriana y antifúngica. Trabajo de grado. Lima – Perú. Universidad Nacional mayor de San Marcos. 73 p.
- Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA). 2005. Plantas que sanan de la Costa Pacífica. Colombia. 168 p.
- Suárez-Contreras. L. 2006. Aislamiento e identificación de *Moniliophthora roreri* causante de la moniliasis en municipios del nororiente colombiano y ensayos preliminares para su control biológico. Revista respuestas: 11(1): 3-8 p.
- Suárez, Y. & Aránzazu, F. 2010. Manejo de las enfermedades del cacao (*Theobroma cacao* L) en Colombia, con énfasis en monilia (*Moniliophthora roreri*). CORPOICA. Bogotá. 88p.
- Suárez, L. & Rangel A. 2012. Aislamiento de microorganismos para el control biológico de *Moniliophthora roreri*. Acta Agronómica, 62(4), 370-378 p.
- Tirado, P. Lopera, A. Ríos, O. 2016. Estrategias de control de *Moniliophthora roreri* y *Moniliophthora pernicioso* en *Theobroma cacao* L. revisión sistemática. Corpoica ciencia y tecnología agropecuaria. 17 (3). 417-430 p.
- Tamayo, L., Ramírez, S., López, O., Quiroga, R., Espinosa, S. 2016. Extractos por destilación de *Origanum vulgare*, *Tradescantia spathacea* y *Zingiber officinale* para el manejo de *Moniliophthora roreri* de *Theobroma cacao*. Revista mexicana de ciencias agrícolas. 7 (5). 1065-1076 p.


- Toro, J. 2009. Estado del conocimiento de la flora silvestre en la jurisdicción de CORANTIOQUIA. Primera edición. Medellín, Colombia. 432 p.
- Torres de la Cruz, M. 2010. Progreso temporal y manejo integrado de la moniliasis (*Moniliophthora roreri* Cif). Montecillo: Institución de Enseñanza en Ciencias Agrarias. Tabasco, México. 99 p.
- Torres, M. 2017. Composición química y actividad antifúngica de los aceites esenciales de *Artemisia herba-alba* Asso, *Artemisia absinthium* L. y *Mentha longifolia* L. Trabajo de grado. Escuela técnica superior en ingeniería agronómica y del medio natural. 49 p.
- Unidad de Planificación Rural Agropecuaria (UPRA). 2015. Proyectos – Distribución de la propiedad rural. Dirección de ordenamiento de la propiedad y mercado de tierras. Socialización de resultados técnicos UPRA 2014 – 2015. 25 p.
- Vásquez, D. 2012. El orégano de monte (*Lippia origanoides*) del Alto Patía: Efecto del método de obtención de sus extractos sobre la composición y la actividad antioxidante de los mismos. Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 123 p.
- Valerino, A., González, T. & Spengler, I. 2005. Estudio fitoquímico biodirigido de la actividad alelopática del follaje de *Lantana trifolia* L. Parte 1. Memorias XVII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas (ALAM).652-660 p.
- Vera, M. 2008. Estudio fitoquímico de una planta de la flora del ecuador: *Ambrosia arborescens*. Escuela politécnica del ejército. Sangolquí. 119 p.
- Vega, N. 2011. Estructura Poblacional de *Lippia origanoides* H.B.K. en el Cañón del Rio Chicamocha (Boyacá & Santander, COL). Universidad Nacional de Colombia. 84 p.
- Vicuña, G., Stashenko, E., Fuentes, J. 2010. Chemical composition of the *Lippia origanoides* essential oils and their antigenotoxicity against bleomycin-induced DNA damage. *Phytother.* 81. 343-349 p.
- Villamil, Jorge. 2015. Aplicación de antagonistas microbianos para el control biológico de *Moniliophthora roreri* Cif en *Theobroma cacao* L, bajo condiciones de campo. *Revista Facultad de Ciencia Agrarias. Universidad Nacional Medellín.* 10-68 p.
- Villavicencio, E. Cano, A. García, X. 2010. Metodología para determinar las existencias de orégano (*Lippia graveolens* H. B. K.) en rodales naturales de Parras de la Fuente,

Coahuila. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. 29 p.
ISBN: 978-607-425-295-8

- Wang P., Hua, C. Xian, C. 2006. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from *Ambrosia trifida* L. *Molecules*, 11, 549-555 p.
- Yáñez, C., Ríos, N., Mora, F., Rojas, L., Diaz, T., Velasco, J., Ríos N. Meléndez, P. 2011. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Ambrosia peruviana* Willd. de los llanos venezolanos. *Revista peruana de biología*. 18(2): 149 – 151 p.
- Zambrano, L., Buenaño, M., Mancera, N., Jiménez, E. 2015. Estudio etnobotánico de plantas medicinales utilizadas por los habitantes del área rural de la Parroquia San Carlos, Quevedo, Ecuador. *Universidad y salud*. 17(1). 97-111 p.
- Zayed R. & M. Wink. 2004. Induction of Tropane Alkaloid Formation in Transformed Root Cultures of *Brugmansia suaveolens* (Solanaceae). *Z. Naturforsch.* 59c: 863-867 p.
- Zoran M. 2008. In vitro antioxidant activity of ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L., *Asteraceae*) herb. *ScienceDirect, Industrial Crops and Products*. 15: 237-259 p.

Anexos

Anexo 1. Ficha de identificación de las especies con propiedades antifúngicas, priorizadas a partir de la información secundaria.

	<p>Nombre común: _____</p> <p>Ubicación: _____</p> <p>Usos: _____</p> <p>_____</p> <p>Características botánicas: _____</p> <p>_____</p> <p>Observaciones: _____</p> <p>_____</p>
---	---

Anexo 2. Entrevista semiestructurada.

1: INFORMACIÓN GENERAL

Nombre: _____ Fecha: _____

Parcialidad: _____ Edad: _____

Tamaño del predio donde se pueden encontrar las especies: _____

Cargo dentro del Resguardo: _____

2: INFORMACIÓN ESPECÍFICA

- ¿Cómo adquirió el conocimiento del uso de las plantas? _____

- Del listado de estas especies, ¿cuáles reconoce como de uso agrícola?

Nº	Nombre común	Si	No

- De las especies identificadas ¿cuáles son los usos que se les da, y cómo se preparan?

N°	Nombre común	Usos	Métodos de preparado

Usos: abono- fungicida-insecticida-repelentes-plantas trampa-otros

Métodos de preparación: molienda - cocción – macerado - fermentado

Fuente: Muñoz y Quiroz 2005 y Tello, G.2015