

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ciencias de la Vida

Diseño de un producto con potencial herbicida – fungicida para el manejo de problemas sanitarios a partir de un desecho de la cosecha de cacao.

PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del Título de:

Ingeniera Agrícola y Biológica

Presentado por:

Valeria Genara Moreira Moreira

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2021

DEDICATORIA

El presente proyecto lo dedico a Dios, mi familia, mi enamorado y mis amigos, quienes han sido un pilar fundamental en mi vida y me han apoyado a lo largo de mi vida académica.

De la misma manera, a todos mis seres queridos quienes no se encuentran físicamente conmigo, pero los guardo con mucho cariño en mi corazón, en especial a mis abuelitos Teresa y José.

AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero agradecimiento a mis padres, por apoyarme desde el día uno, a mi enamorado por confiar en mí, a todos los docentes que me han acompañado durante cinco años, instruyéndome académicamente para formarme como profesional y del mismo modo, a mis compañeros por apoyarme a lo largo de este trayecto.

DECLARACIÓN EXPRESA

“Los derechos de titularidad y explotación, nos corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; *Valeria Genara Moreira Moreira* doy mi consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual”



Valeria Genara Moreira Moreira

EVALUADORES

Jiménez Feijoo María Isabel

PROFESOR DE LA MATERIA

Jiménez Feijoo María Isabel

PROFESOR TUTOR

RESUMEN

Ecuador es el productor número uno de cacao fino de aroma, ya que satisface el 60% de la demanda actual, sin embargo, es importante reconocer que las semillas no constituyen al cacao en su totalidad ya que estas sólo representan un 19% del fruto por lo que el porcentaje restante es considerado como residuo o desecho de cosecha. La baba de cacao o exudado representa el 6% del fruto y por cada quintal de mazorcas producidos se obtienen hasta 2 litros de este subproducto el cual posee potencial herbicida y fungicida, el mismo que fue descubierto en el campo; cuando se observaba que bajo los cajones de fermentación no crecía absolutamente nada y que a pesar de que las almendras se encontraban acumuladas entre sí, no se desarrollaban hongos. Por esta razón se seleccionó al canutillo (*Commelina diffusa*) y a la pata de gallina (*Eleusine indica*), dos malezas comunes de rápida propagación, así como hongos fitopatógenos de los géneros *Colletotrichum sp.*, *Curvularia sp.*, *Phytophthora sp.*, *Fusarium oxysporum*, *Moniliophthora roreri* y *Pseudocercospora fijiensis* para determinar la eficacia del producto a concentraciones del 100%, 50% y 10% (para las malezas) y del 50%, 25%, 15% y 5% para los hongos.

Se conoció así, el potencial herbicida y fungicida de la baba de cacao, siendo más efectivas las concentraciones del 100% y 50% para malezas y todas las concentraciones evaluadas para los hongos fitopatógenos, a excepción del género *Curvularia sp.* cuya eficacia máxima fue del 34% a un 5% de concentración. De la misma manera, se identificó a las bacterias presentes en la baba de cacao que contribuyen al potencial del producto, asegurando su eficacia para el manejo y control fitosanitario.

Palabras Clave: Hongos fitopatógenos, malezas, baba de cacao y residuo de cosecha.

ABSTRACT

*Ecuador is the number one producer of fine aroma cocoa, since it satisfies 60% of the current demand, however, it is important to recognize that the seeds do not constitute cocoa in its entirety since they only represent 19% of the fruit per what the remaining percentage is considered as residue or harvest waste. The cocoa slime or exudate represents 6% of the fruit and for each quintal of pods produced, up to 2 liters of this product are obtained, which has herbicidal and fungicidal potential, the same that was discovered in the field; when it was observed that absolutely nothing grew under the fermentation boxes and that despite the fact that the almonds were accumulated among themselves, no fungi developed. For this reason, the canutillo (*Commelina diffusa*) and the pata de gallina (*Eleusine indica*) were selected, two common fast-spreading weeds, as well as phytopathogenic fungi of the genera *Colletotrichum* sp., *Curvularia* sp., *Phytophthora* sp., *Fusarium oxysporum*, *Moniliophthora roreri* and *Pseudocercospora fijiensis* to determine the efficacy of the product at concentrations of 100%, 50% and 10% (for weeds) and 50%, 25%, 15% and 5% for fungi.*

*Thus, the herbicidal and fungicidal potential of cocoa slime was known, with the concentrations of 100% and 50% being more effective for weeds and all the concentrations evaluated for phytopathogenic fungi, except for the genus *Curvularia* sp. whose maximum efficiency was 34% at 5% concentration. In the same way, the bacteria present in the cocoa slime that contribute to the potential of the product were identified, ensuring its effectiveness for phytosanitary management and control.*

Keywords: *Phytopathogenic fungi, weeds, cocoa slime and crop residue.*

ÍNDICE GENERAL

EVALUADORES	5
RESUMEN	6
<i>ABSTRACT</i>	7
ÍNDICE GENERAL	8
ABREVIATURAS.....	11
INDICE DE FIGURAS	12
ÍNDICE DE TABLAS	13
CAPÍTULO 1	14
1. INTRODUCCIÓN.....	14
1.1 Descripción del problema.....	15
1.2 Justificación del problema.....	16
1.3 Objetivos	16
1.3.1 Objetivo General.....	16
1.3.2 Objetivos Específicos	16
1.4 Marco teórico	17
1.4.1 Herbicidas.....	17
1.4.2 Fungicidas	20
1.4.3 Pesticidas sintéticos y orgánicos	23
1.4.4 Metabolitos secundarios de las plantas	24
1.4.5 El rol de los metabolitos secundarios como pesticidas.....	25
1.4.6 Baba de cacao.....	26
CAPÍTULO 2	28
2. Metodología.....	28
2.1 Área de estudio.....	29

2.2	Evaluación in vivo	29
2.2.1	Selección de malezas de hoja ancha y angosta	29
2.2.2	Establecimiento de plantas control, repeticiones y dosificación del producto	30
2.2.3	Evaluación de la selectividad del producto mediante la escala ALAM	31
2.2.4	Control de malezas	31
2.3	Evaluación in vitro	32
2.3.1	Selección de hongos fitopatógenos	32
2.3.2	Establecimiento de cajas control, repeticiones y dosificación del producto	33
2.3.3	Preparación de medios de cultivo	34
2.3.4	Inoculación de hongos e incubación de muestras	34
2.3.5	Evaluación de la carga microbiana de la baba de cacao	35
2.3.6	Evaluación del producto al 100%	36
2.3.7	Efectividad del producto con potencial fungicida	36
2.4	Análisis estadístico	36
2.5	Viabilidad económica del proyecto	37
2.5.1	Valor Actual Neto (VAN)	37
2.5.2	Tasa Interna de Retorno (TIR)	38
CAPÍTULO 3		39
3.	RESULTADOS Y ANÁLISIS	39
3.1	Evaluación in vivo	39
3.1.1	Eficacia del producto aplicado en <i>Commelina diffusa</i> y <i>Eleusine indica</i>	39
3.1.2	Análisis estadístico de las variables medidas	40
3.1.3	Eficacia del producto sobre hongos fitopatógenos seleccionados	44

3.1.4 Evaluación de la carga microbiana del producto.....	46
3.1.5 Evaluación del producto al 100% de concentración.....	49
3.1.6 Rentabilidad del producto con potencial herbicida y fungicida.....	50
CAPÍTULO 4	52
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	52
4.1 Conclusiones.....	52
4.2 Recomendaciones	52
BIBLIOGRAFÍA	54
ANEXOS	59

ABREVIATURAS

PDA	Agar Papa Dextrosa
AA	Agar Agua
R ₁	Repetición 1
R ₂	Repetición 2
R ₃	Repetición 3
R ₄	Repetición 4
R ₅	Repetición 5
TIR	Tasa interna de retorno
VAN	Valor actual neto
BE	Baba esterilizada
BSE	Baba sin esterilizar

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1.- Clasificación de los herbicidas.	18
Figura 1.2.- Clasificación de los fungicidas.	21
Figura 1.3.- Clasificación de los metabolitos secundarios.	24
Figura 1.4.- Composición de la baba de cacao.	27
Figura 2.1.- Metodología del diseño de un producto con potencial herbicida – fungicida a partir de la baba de cacao.	28
Figura 2.2.- Ubicación del área de estudio en el recinto Hermanos Quito, cantón Simón Bolívar.	29
Figura 2.3 y Figura 2.4.- Pata de gallina (<i>Eleusine indica</i>) y canutillo (<i>Commelina diffusa</i>).	30
Figura 2.5.- Concentraciones utilizadas para evaluar el producto en malezas de hoja angosta y hoja ancha.	30
Figura 2.6.- Metodología empleada para aislar hongos de <i>Theobroma cacao</i>	32
Figura 2.7.- Concentraciones utilizadas para evaluar la influencia de la baba de cacao en el crecimiento y desarrollo de hongos fitopatógenos.	33
Figura 3.1.- Efectos de la variable <i>altura</i> en el tiempo.	41
Figura 3.2.- Efectos de la variable <i>número de hojas verdes</i> en el tiempo.	42
Figura 3.3.- Efectos de la variable <i>altura</i> en el tiempo.	43
Figura 3.4.- Efectos de la variable <i>número de hojas verdes</i> en el tiempo.	44
Figura 3.5.- Eficacia de la baba de cacao sobre los géneros <i>Curvularia sp.</i> y <i>Colletotrichum sp.</i>	45
Figura 3.6.- Eficacia de la baba de cacao sobre <i>Pseudocercospora fijiensis</i> y <i>Fusarium oxysporum</i>	45
Figura 3.7.- Eficacia de la baba de cacao sobre <i>Phytophthora sp.</i> y <i>Moniliophthora roreri</i>	46
Figura 3.8.- Crecimiento de la baba de cacao fresca, esterilizada y sin esterilizar.	47
Figuras 3.9 y 3.10.- <i>Saccharomyces cerevisiae</i> y <i>acetobacter sp.</i>	47
Figura 3.11.- Crecimiento de la baba de cacao de 10 semanas, esterilizada y sin esterilizar.	48

Figura 3.12.- Presencia de <i>Lactobacillus sp.</i> en la baba de cacao sin esterilizar de 10 semanas.....	48
Figura 3.13.- Crecimiento de colonias de hongos fitopatógenos sometidos a concentración del 100% de baba de cacao esterilizada.....	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1.- Condiciones climáticas en el recinto Hermanos Quito, cantón Simón Bolívar.	29
Tabla 2.2.- Escala visual de acuerdo con la Asociación Latinoamericana de Malezas. (ALAM, 1974).....	31
Tabla 3.1.- Porcentaje de eficacia para <i>Commelina diffusa</i> y <i>Eleusine indica</i> . 39	
Tabla 3.2.- Porcentaje de eficacia para <i>Commelina diffusa</i> y <i>Eleusine indica</i> . 39	
Tabla 3.3.- Porcentaje de eficacia para <i>Commelina diffusa</i> y <i>Eleusine indica</i> . 40	
Tabla 3.4.- ANOVA para la variable <i>altura</i>	40
Tabla 3.5.- ANOVA para la variable <i>número de hojas verdes</i>	41
Tabla 3.6.- ANOVA para la variable <i>altura</i>	42
Tabla 3.7.- ANOVA para la variable <i>número de hojas verdes</i>	43
Tabla 3.8.- Evaluación de los hongos fitopatógenos al ser sometidos a una concentración de baba de cacao sin esterilizar al 100%.	49
Tabla 3.9.- Evaluación de los hongos fitopatógenos al ser sometidos a una concentración de baba de cacao esterilizada al 100%.	50
Tabla 3.10.- Evaluación de rentabilidad del proyecto para productores de cacao. Autores: Christian López e Isaac Espinoza.	51
Tabla 3.11.- Evaluación de rentabilidad del proyecto para personas externas. Autores: Christian López e Isaac Espinoza.	51

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

La revolución verde trajo consigo la innovación agrícola gracias a su naturaleza intensiva y al uso de grandes cantidades de insumos. Ciertamente, dichos recursos ayudaban a incrementar la productividad del maíz, trigo y otros granos, pero 60 años después han sido la razón por la que los suelos se estén deteriorando debido a la implementación de agroquímicos de manera desmesurada, con la finalidad de obtener altos rendimientos en determinados sistemas productivos. El excesivo uso de plaguicidas, fungicidas y herbicidas evitan la conservación natural del suelo debido a que afectan la microbiota existente, del mismo modo, perjudica a los acuíferos gracias a la percolación de estas sustancias (Avalos, 2009). De manera similar, de acuerdo con la Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, el uso de agroquímicos provoca el 99% de intoxicaciones agudas, las mismas causadas por la falta de conocimiento de las personas al manipularlo. Pero la implementación de estos productos no sólo era común para producir poáceas, sino que tomó lugar en el sector cacaotero y, dada su importancia, fue necesario controlar malas hierbas y hongos para así evitar riesgos que atenten contra la producción.

Si bien es cierto, Ecuador es un país megadiverso, caracterizado por producir cacao fino de aroma el cual cubre con el 60% de la demanda actual (SAE, 2018) pero, a pesar de su importancia, a finales del siglo XIX e inicios del siglo XX, enfermedades como la Moniliasis (*Moniliophthora roreri*) y Escoba de Bruja (*Moniliophthora perniciosa*) provocaron cuantiosas pérdidas que superaron el 70% de hectáreas devastadas durante el año de 1920 (ANECACAO, s.f.), no obstante, tiempo después el cacao ecuatoriano resurge y ya para el año 2020 se destinaron aproximadamente 600,000 hectáreas para este cultivo (Cobos, 2021). Debido al incremento de producción del cacao, se generan más desperdicios de este fruto, como cáscaras y baba (o mucílago, como también se la conoce)

siendo este último poco utilizado por cacaoteros debido a la falta de conocimiento acerca de los beneficios que genera.

1.1 Descripción del problema

Ecuador es un país mundialmente reconocido por la producción de cacao fino de aroma, el cual atraviesa por una serie de procesos hasta llegar a la fabricación del chocolate, sin embargo, es importante destacar un paso crucial que ocurre entre la recolección o cosecha de mazorcas maduras y la fermentación. El despulpado o desgrane de la mazorca de cacao es una actividad en la que se trocea el fruto y se separa la pulpa o mucílago (también conocido como baba) de las semillas para continuar con la fermentación. A simple vista, se puede inferir que este producto es un desecho puesto que la parte más importante de la mazorca de cacao, son las almendras, sin embargo, la baba se compone principalmente de agua, azúcares, proteína, glucosa, pectinas, ácido cítrico y cenizas y es utilizada para elaborar bebidas, postres, vinagre, entre otros.

De acuerdo con varias encuestas realizadas en el cantón Naranjal se conoció que el 81% de los agricultores se dedican a producir cacao y, dentro de esta muestra se determinó que el 94% de ellos no utilizan la baba de cacao por varias razones, no obstante, el 72% se debe a la falta de conocimiento (Estrella, 2013).

Se conoce en la actualidad que la extensión agrícola ayuda, a partir de la transferencia de conocimientos y del autoaprendizaje entre el técnico y el productor, a contribuir al desarrollo de capacidades con la finalidad de llegar a resolver problemáticas que surgen día a día en el campo, no obstante, es necesario que los agricultores conozcan cómo aprovechar al máximo los recursos de sus fincas.

1.2 Justificación del problema

La baba de cacao es un elemento olvidado. Durante el proceso de despulpado, se separa el mucílago o la pulpa de las almendras, las cuales, continuarán a posteriores procesos como fermentación o secado. Si bien es cierto, la baba de cacao es empleada para elaborar alcoholes o vinagres, la manufacturación de un producto con potencial herbicida – fungicida es una estrategia que permitirá realizar labores fitosanitarias en el campo agrícola, evitando el uso indiscriminado de agroquímicos que provocan la degradación de suelos, así como problemas a la salud y al medio ambiente.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

- Diseñar un producto a partir del desecho de la cosecha de cacao, caracterizando su valor biológico sobre malezas y hongos para manejar problemas sanitarios.

1.3.2 Objetivos Específicos

1. Comparar el efecto de la baba de cacao pura a tres diferentes concentraciones mediante bioensayos in vivo para observar fases de germinación y crecimiento de malezas de hoja ancha y angosta en diferentes fechas de aplicación.
2. Analizar el impacto de la baba de cacao pura en cuatro diluciones distintas a través de bioensayos in vitro para reconocer las fases de germinación y crecimiento de seis géneros de hongos.
3. Identificar la carga microbiana de la baba de cacao pura estéril y no esterilizada por medio de bioensayos in vitro a fin de observar el crecimiento de microorganismos que forman parte de su composición.

1.4 Marco teórico

1.4.1 Herbicidas

Desde los orígenes de la revolución verde, se conoce que el éxito de este evento se basó en la inversión en investigaciones de cultivos, infraestructura y desarrollo de mercado (Pingali, 2012). La implementación de tecnologías e insumos para mejorar la rentabilidad de los cultivos fue tomando importancia hasta la actualidad, en la que el uso de agroquímicos como fertilizantes, herbicidas y plaguicidas es fundamental para optimizar un sistema de producción.

Los herbicidas, según Oklahoma Farm Bureau Foundation for Agriculture (2021), “son pesticidas usados para matar plantas no deseadas”. En efecto, la función que cumplen los herbicidas es eliminar las malas hierbas o malezas que interfieren con los cultivos debido a que compiten por agua, luz, nutrientes y espacio. La formulación de herbicidas modernos, caracterizados por su rápida descomposición, ha logrado evitar la contaminación del agua y ha permitido que futuros cultivos puedan crecer y desarrollarse sin ser afectados. Otras ventajas incluyen la reducción de mano de obra, tiempo y dinero.

A pesar de las innovaciones frecuentes en el campo agrícola, el uso excesivo o la mala manipulación de agroquímicos provocan daños perjudiciales al medio ambiente y a la salud del ser humano, generan resistencia en las malezas, promueven los monocultivos, entre otros.

1.4.1.1 Clasificación de los herbicidas

Los herbicidas presentan una amplia clasificación, la cual incluye la acción que ejercen sobre las malezas, sus usos y propiedades químicas. De manera más detallada se muestra a continuación la Figura 1.1, una categorización de herbicidas facilitada por (Agroterra, 2021):

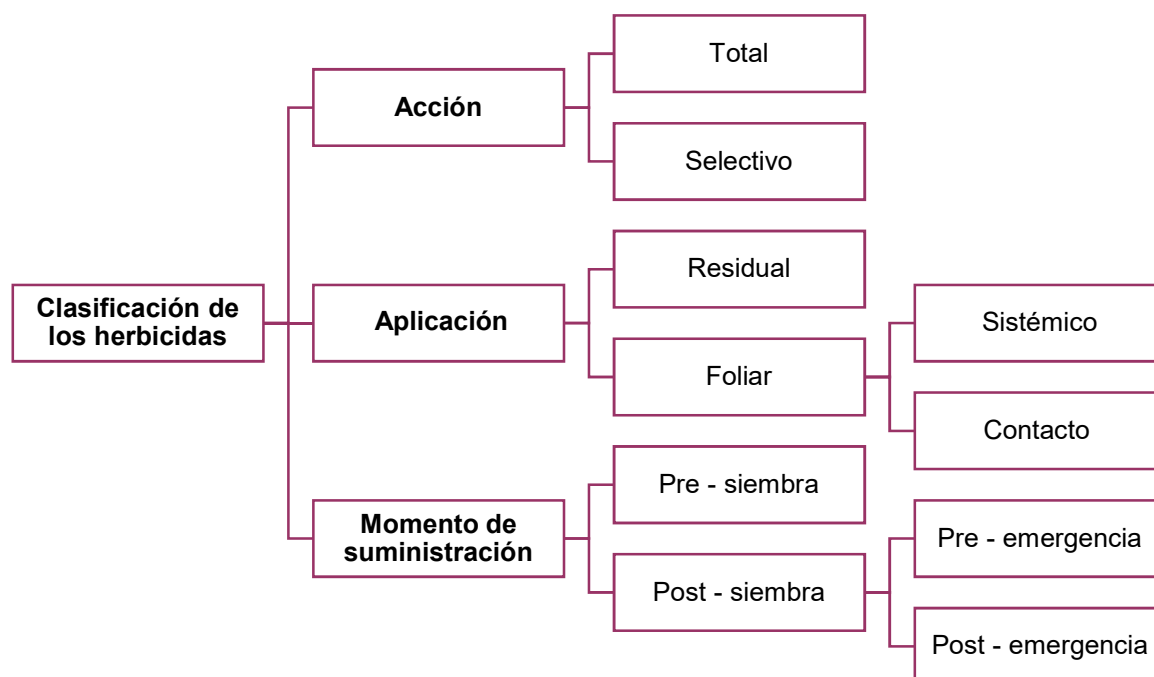


Figura 1.1.- Clasificación de los herbicidas.

1.4.1.2 Modo de acción de los herbicidas

Según Plant & Soil Science eLibrary, los herbicidas presentan ocho modos de acción, los cuales incluyen:

1.4.1.2.1 Inhibidores de la síntesis de aminoácidos

Actúan de manera particular en enzimas, evitando la producción de aminoácidos (componentes esenciales de las proteínas que repercuten en el desarrollo de plantas). En este grupo se encuentran categorizados los inhibidores de ALS/AHAS¹ de glutamina sintetasa y EPSP sintasa.

1.4.1.2.2 Inhibidores del crecimiento

Se caracterizan por irrumpir en el crecimiento de las malas hierbas. Generalmente son aplicados en el suelo, así se logra impedir el desarrollo de raíces o la emergencia de plantas. En esta clasificación se incluyen a las familias de las acetamidas, dinitroanilinas y carbamatos.

¹ Triazolopirimidinas, imidazolinonas y sulfonilureas.

1.4.1.2.3 Reguladores del crecimiento

Se los denomina auxinas porque promueven el crecimiento rápido de la planta, al igual que las fitohormonas vegetales del mismo nombre. En la actualidad se desconoce a ciencia cierta el sitio completo de acción por lo que se piensa que toma lugar en los receptores de hormonas, ubicados dentro de las células.

Siendo el modo el modo de acción más antiguo, incluye al 2,4-D además de los fenoxis y ácidos: benzoico, picolínico y carboxílico.

1.4.1.2.4 Inhibidores de la fotosíntesis

Estos herbicidas obstaculizan el flujo de electrones del fotosistema II en las reacciones dependientes de luz. Sin el proceso fotosintético, no se produce la energía química en forma de azúcares a partir de la energía lumínica, produciendo materia orgánica y oxígeno.

Esta clasificación comprende las familias de triazinas, nitrilos, uracilos, fenilureas, benzotiadizoles y amidas.

1.4.1.2.5 Inhibidores de la síntesis de ácidos grasos

Este tipo de herbicidas modifican la estructura celular mediante la fabricación de radicales tóxicos, evitando que se produzcan membranas celulares, logrando así la interrupción del crecimiento. Influyen en la síntesis de lípidos como ceras, fosfolípidos o colesterol.

En esta clasificación se conocen dos familias: los ariloxifenoxipropionatos y las ciclohexanodionas.

1.4.1.2.6 Ruptura de membranas celulares

Actúan en el área con la que entran en contacto, creando superóxidos y radicales hidroxilos los mismos que se encargan de destruir las membranas celulares. Este modo de acción incluye a las familias de: bipyridilos, difenileter, aril triazolinonas y fenilphalamidas.

1.4.1.2.7 Inhibidores de pigmentos

Se emplean como pre-emergentes y evitan la producción de compuestos útiles que tienen la capacidad de proteger a las plantas de la destrucción de la clorofila, generando zonas cloróticas. Las familias químicas que conforman este modo de acción son: isoxazoles, piridazinonas e isoxazolidinonas.

1.4.1.2.8 Desconocidos

En esta categoría se encuentran todos los modos de acción que no cuentan con una clasificación específica.

1.4.2 Fungicidas

De acuerdo con National Pesticide Information Center (2019), “un fungicida es un pesticida cuya función es eliminar o evitar el crecimiento de hongos y sus esporas”. Estos agroquímicos son usados para controlar la presencia de hongos como royas y mohos que afectan a los cultivos y que, generalmente son transmitidos por sus propias esporas, las cuales se dispersan por acción del viento o incluso pueden encontrarse en el suelo.

1.4.2.1 Clasificación de los fungicidas

McGrath (2014), menciona que al igual que los herbicidas, los fungicidas tienen una amplia clasificación asociada al movimiento en las plantas, al grupo químico, a su función de protección, al rango de actividad y al modo de acción para lo cual se tiene el conocimiento de lo siguiente:

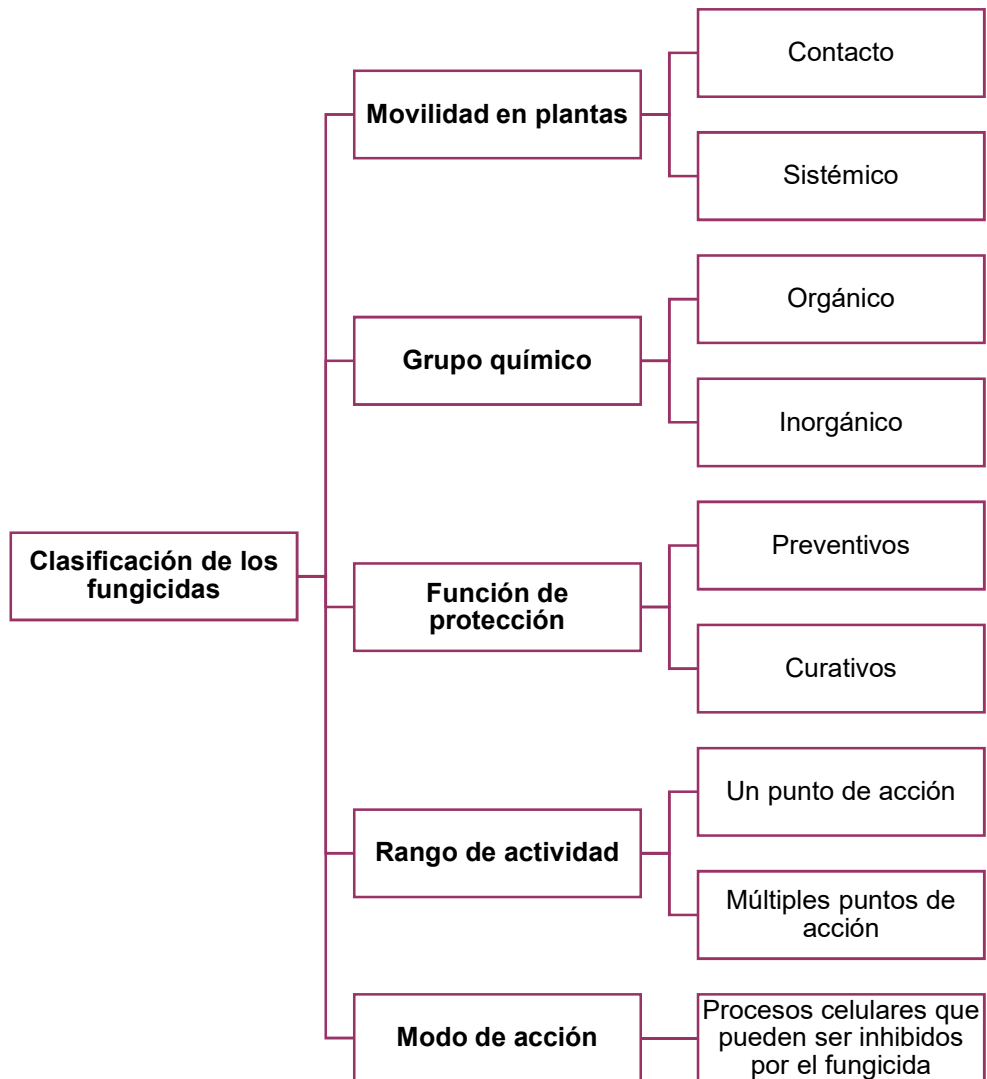


Figura 1.2.- Clasificación de los fungicidas.

1.4.2.2 Modo de acción de los fungicidas

Según Fungicide Resistance Action Committee (2019), los fungicidas se clasifican de acuerdo a los siguientes modos de acción:

1.4.2.2.1 Metabolismo de ácidos nucleicos

Este tipo de fungicidas influyen en la división celular y en la síntesis de ácidos nucleicos, aminorando la producción de la ARN polimerasa I, ADN topoisomerasa o adenosin – deaminasa.

1.4.2.2.2 Proteínas motoras y del citoesqueleto

La tubulina, una proteína globular que da origen a los microtúbulos constituyentes del citoesqueleto, es importante para formar y segregar cromosomas en el proceso de división celular, por lo tanto, cualquier perturbación puede afectar a la metafase durante el proceso de mitosis.

1.4.2.2.3 Respiración

Se caracterizan por su capacidad para inhibir la respiración celular a nivel mitocondrial.

1.4.2.2.4 Síntesis de aminoácidos y proteínas

Los fungicidas que presentan este modo de acción inhiben la biosíntesis de la metionina² y la secreción de enzimas, incluidas en el traslado de información contenida en el ARN.

1.4.2.2.5 Transducción de señales

Estos fungicidas están formados por sustancias que afectan la división celular, así como el metabolismo y la síntesis del ARN y ADN.

1.4.2.2.6 Transporte o síntesis de lípidos

Perturban la función de las membranas celulares, actuando sobre su permeabilidad lo cual repercute en la formación de glicolípidos.

1.4.2.2.7 Biosíntesis de esterol en las membranas

Se caracterizan por inhibir procesos enzimáticos en la ruta de la biosíntesis del esterol (estos esteroides se localizan en las membranas celulares de los hongos y les otorgan control de la permeabilidad y estabilidad).

² Aminoácido neutro que es partícipe de la síntesis de proteínas.

1.4.2.2.8 Biosíntesis de la pared celular

Los fungicidas que forman parte de esta clasificación dificultan la fijación de la glucosamina; un monómero de la quitina localizado en la pared celular de los hongos.

1.4.2.2.9 Otros

Existen modos de acción de fungicidas que inducen defensas en la planta huésped, los productos químicos que actúan en varios sitios, los productos biológicos con múltiples modos de acción, los desconocidos y no clasificados.

1.4.3 Pesticidas sintéticos y orgánicos

En la actualidad, pesticidas como herbicidas y fungicidas pueden ser considerados como sintéticos o naturales (también conocidos como orgánicos). Los productos sintéticos, de acuerdo con Nancy Knauss (2014), “son sustancias elaboradas por el hombre, de tal manera que no se encuentran naturalmente”. Por lo contrario, cualquier producto proveniente de fuentes naturales (como plantas o minerales) son considerados orgánicos. Por mucho tiempo se ha malentendido que un producto, al ser orgánico, no es peligroso para el medio ambiente o para la salud humana. Un claro ejemplo es la nicotina, una sustancia que es producida por el tabaco (*Nicotiana tabacum*) y actúa como repelente natural de muchos insectos, sin embargo, es considerada peligrosa para otras especies en pequeñas cantidades (Modern Pest Services, 2018). De la misma manera, el árbol de neem (*Azadirachta indica*) cumple la misma función, sin embargo, el aceite que proviene de las semillas puede acabar con especies de coléopteros, dípteros, hemípteros y lepidópteros, las cuales actúan como control biológico de muchos insectos plaga (Zanuncio, y otros, 2016).

1.4.4 Metabolitos secundarios de las plantas

Eng Soon Teoh (2015) afirma que: “los metabolitos secundarios son sustancias producidas por las plantas que las hacen competitivas entre ellas en su propio ambiente.” Dichas sustancias son capaces de inducir a la floración, cuajado de frutos, de mantener el crecimiento perenne o presentar señales de comportamiento deciduo, es decir, si perderán sus hojas en determinadas épocas del año. Los metabolitos secundarios han demostrado, a lo largo de los años, los efectos biológicos que presentan, los cuales han actuado como antifúngicos, antivirales y antibióticos por lo que son aptos para proteger a las plantas de futuros agentes patógenos (Hussein & El-Anssary, 2017). Dentro de los metabolitos secundarios más importantes se destacan los flavonoides, taninos, terpenos, alcaloides y glucosinolatos (DIMEFAR, 2021), sin embargo, un estudio realizado por Guadalupe, Ramírez, Quiñones & Enríquez (2013) detalla la siguiente clasificación:

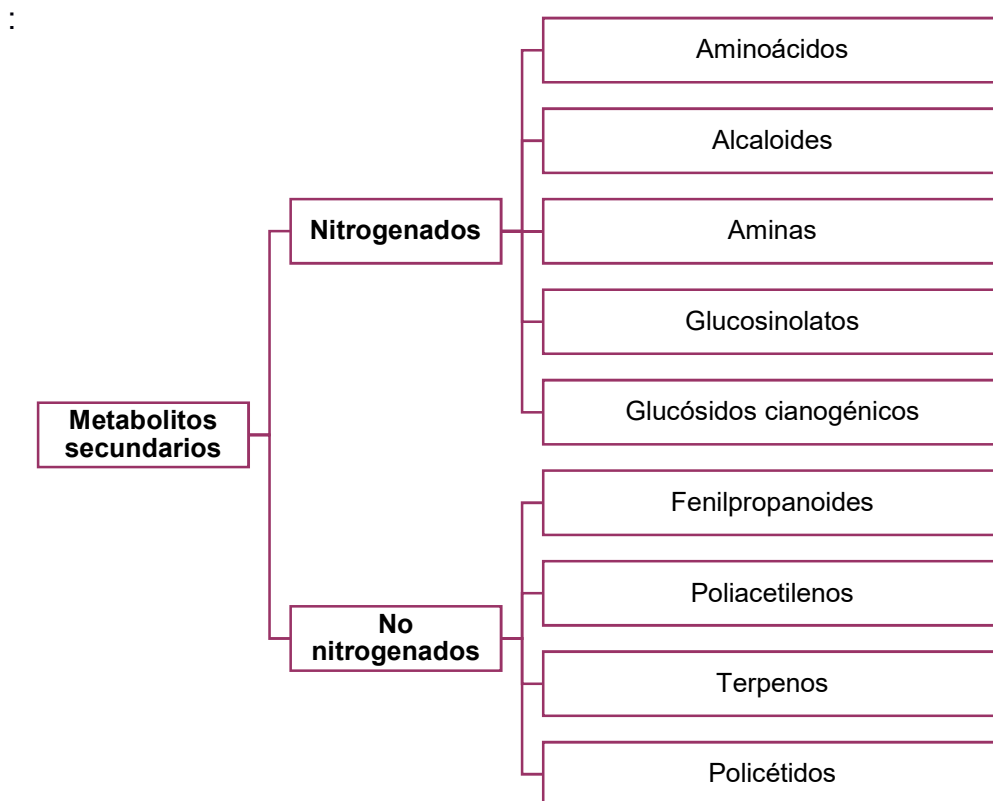


Figura 1.3.- Clasificación de los metabolitos secundarios.

1.4.5 El rol de los metabolitos secundarios como pesticidas

El uso excesivo de agroquímicos, ligado a las prácticas agrícolas, ha repercutido de manera negativa en suelos, ríos y acuíferos, producto de una contaminación difusa, la cual, según Bravo-Inclán, Saldaña-Fabela, Izurieta-Dávila, & Mijangos-Carro (2013) “es generada desde una fuente puntual e implica el transporte de residuos y su posterior transformación a través de múltiples medios”. Esta contaminación puede darse por agua, aire y suelo, siendo este último el más evidente (Yaguana, Sánchez, Aguilar, & Pozo, 2019). A raíz de este problema, en la actualidad se busca reemplazar el uso de productos químicos por otros menos nocivos tanto para la salud humana como para el medio ambiente.

El estudio de los metabolitos secundarios ha logrado crear nuevas alternativas capaces de reemplazar a los agroquímicos convencionales. Dentro de las especies más comunes se destacan: el tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), neem (*Azadirachta indica*) y guanábana (*Annona muricata* L.), además de aceites esenciales como el eugenol, terpineol y alcohol cinámico, cuyos metabolitos secundarios han sido útiles para desarrollar insecticidas o neuro-insecticidas (González, 2019). Existen fuentes de investigación en las que se ha determinado la influencia de malezas en el crecimiento o desarrollo de otras especies vegetales así como fúngicas (alelopatía), como el caso de la caminadora (*Rottboellia cochinchinensis* (Lour.); Ynfante (2017) hace alusión a un estudio en el que se determinó que esta especie reduce la germinación de la verdolaga (*Portulaca oleracea*) empleando el tratamiento del mantillo (se realiza el corte varias hojas verdes de *Rottboellia cochinchinensis* y se ubican en maceteros, a modo de cobertura), no obstante, no se determinaron propiedades antifúngicas para *Pestalotia sp.*, *Dothiorella sp.* y *Fusarium sp.* en medios de cultivo de V8 acidificado y agar agua.

La importancia de los metabolitos secundarios principalmente radica en la capacidad de inhibir el crecimiento y posterior desarrollo de especies

vegetales o fúngicas, aunque muchos de ellos actúan como indicadores de calidad y dan ciertas características organolépticas específicas a los alimentos. En el caso del cacao, los alcaloides que toman lugar en los granos, hojas y frutos, presentan un rol biológico de defensa, permitiéndole a la planta ocuparse del ataque de herbívoros gracias a sus compuestos alelopáticos (ALAN, 2016). Aunque aún no se determina el rol que ejercen los polifenoles sobre los hongos causantes de enfermedades como moniliasis o escoba de bruja, se siguen realizando investigaciones al respecto para mitigar problemas fitosanitarios.

1.4.6 Baba de cacao

El mucílago (conocido también como baba) es una membrana aromática de color blanquecino que recubre las semillas de cacao y se caracteriza por presentar una consistencia similar al algodón. La presencia de este tejido en las semillas durante la fase de fermentación es crucial para el desarrollo de microorganismos precursores del sabor del chocolate, los cuales se manifiestan íntegramente en la fase de tostado del grano (Kalvatchev, Garzaro, & Cedezo, 1998). Pero a pesar de su importancia para esta fase, se obtiene más baba de lo que en realidad se necesita y gran parte de los productores cacaoteros carecen de conocimiento acerca de su utilidad por lo que es considerada un desecho, no obstante, debido a su sabor dulce, ha logrado incursionar en el mundo de la gastronomía y también ha sido empleada para elaborar alcohol, vinagre, entre otros.

1.4.6.1 Composición de la baba de cacao

El tejido que se encuentra adherido a las semillas de cacao se caracteriza por un sabor dulce y tropical. Con respecto a su composición, (Coronel & Román, 2015) detallan información sintetizada en la Figura 1.4 en la cual se puede apreciar que algunos componentes llegan a reducirse significativamente o a desaparecer por completo a excepción del alcohol etílico y el ácido acético. El

etanol principalmente se produce por el desdoblamiento de azúcares realizado por microorganismos como levaduras para luego transformarse en ácido acético.

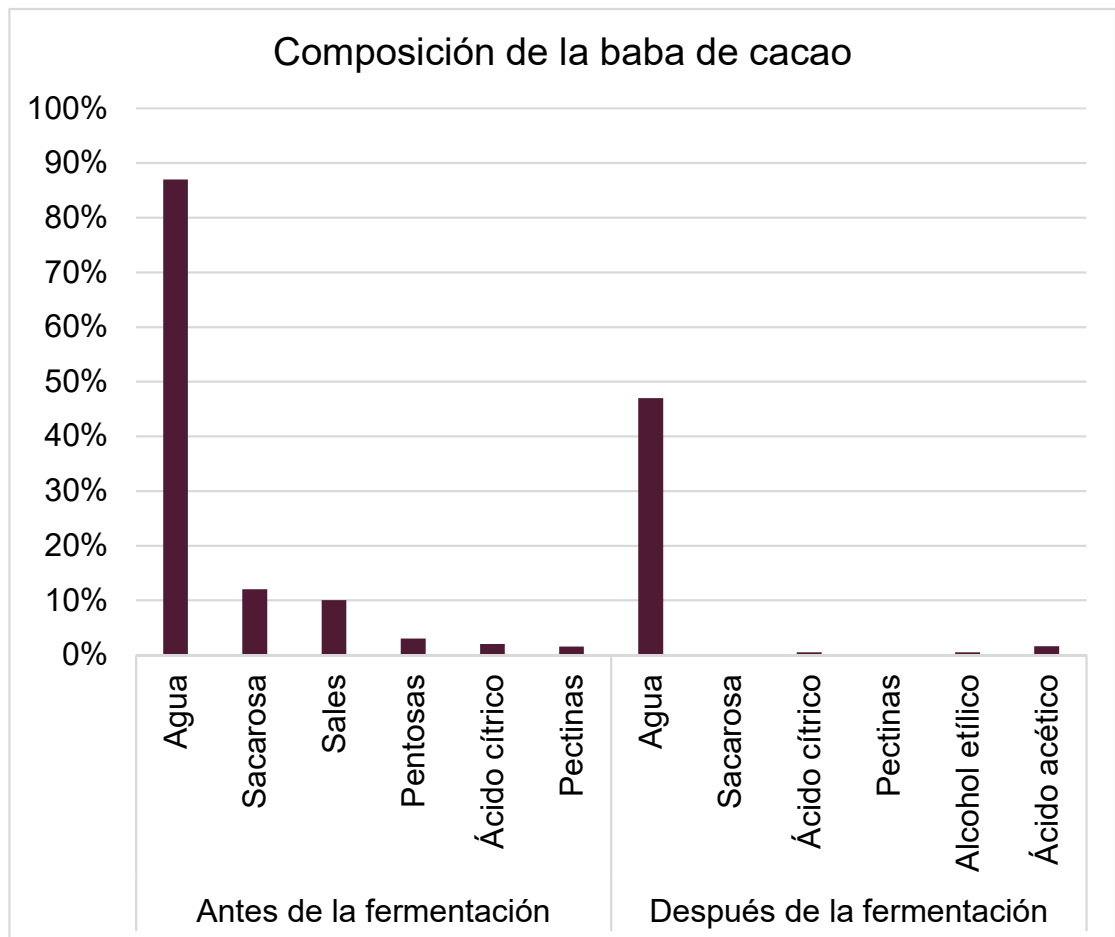


Figura 1.4.- Composición de la baba de cacao.

CAPÍTULO 2

2. METODOLOGÍA

Este proyecto se basó en la evaluación biológica del producto, la cual se dividió en dos etapas (Figura 2.1):

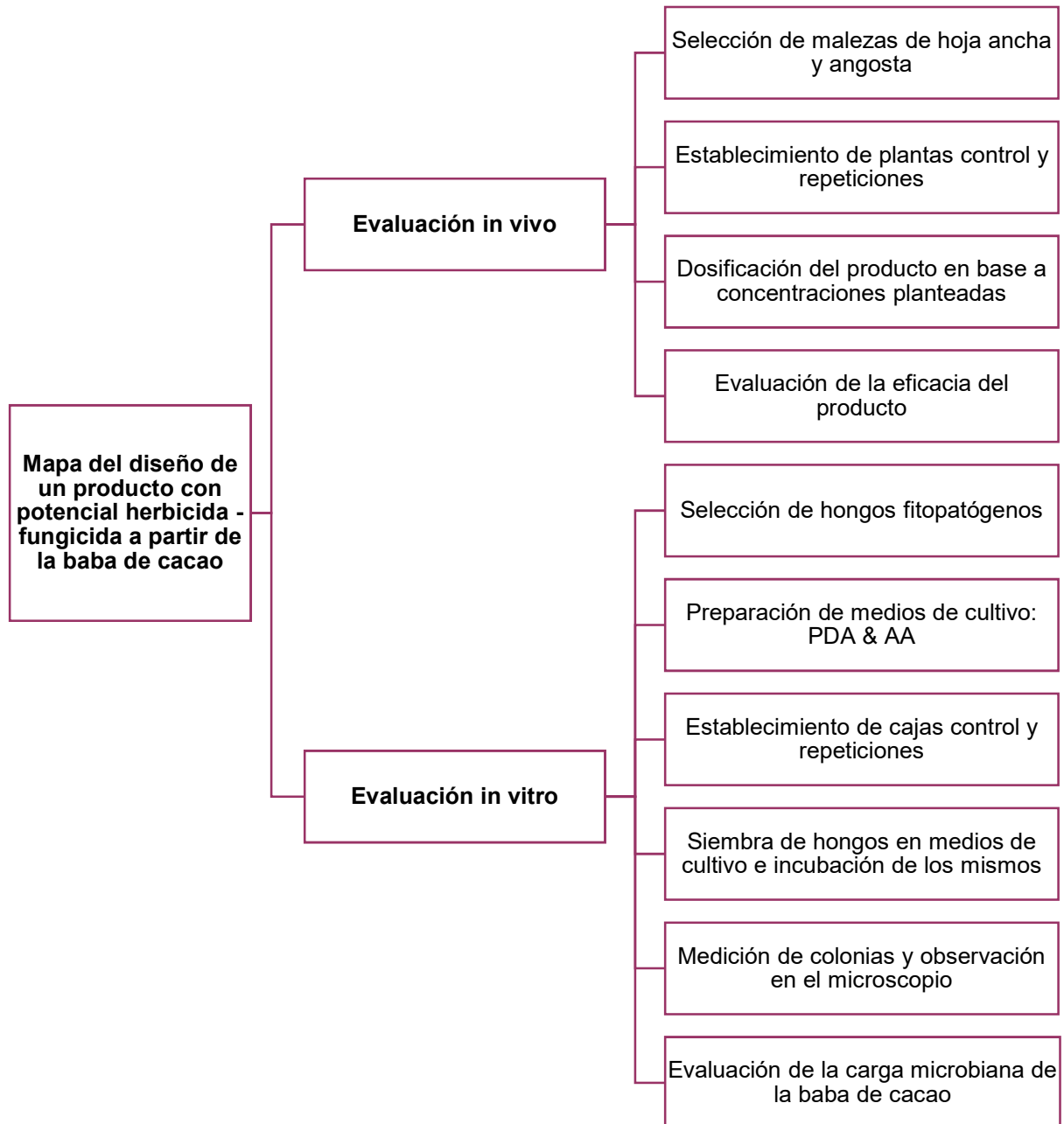


Figura 2.1.- Metodología del diseño de un producto con potencial herbicida – fungicida a partir de la baba de cacao.

2.1 Área de estudio

La investigación se llevó a cabo en el recinto Hermanos Quito, ubicado en la parroquia Coronel Lorenzo de Garaicoa perteneciente al cantón Simón Bolívar de la provincia del Guayas. Este recinto se encuentra a 76 metros sobre el nivel del mar y posee un relieve plano, con pendientes de 1.5%. Las coordenadas del sector son 2°7'19.65"S, 79°18'35.81"O (Figura 2.2) mientras que la data climática se detalla en la Tabla 2.1:



Figura 2.2.- Ubicación del área de estudio en el recinto Hermanos Quito, cantón Simón Bolívar.

Temperatura mínima (°C)	20,5
Temperatura máxima (°C)	32,3
Punto de rocío (°C)	21,6
Humedad (%)	88
Velocidad del viento (km/h)	0,1

Tabla 2.1.- Condiciones climáticas en el recinto Hermanos Quito, cantón Simón Bolívar.

2.2 Evaluación in vivo

2.2.1 Selección de malezas de hoja ancha y angosta

Esta metodología se fundamentó en la evaluación biológica del producto una vez realizada la aplicación a malezas de hoja ancha y angosta. Las

especies vegetales seleccionadas fueron: pata de gallina (*Eleusine indica*) y canutillo (*Commelina diffusa*), contando con 20 plántulas de cada una.



Figura 2.3 y Figura 2.4.- Pata de gallina (*Eleusine indica*) y canutillo (*Commelina diffusa*).

2.2.2 Establecimiento de plantas control, repeticiones y dosificación del producto

Las malezas de hoja ancha y hoja angosta se distribuyeron en 20 macetas rectangulares de 83 cm x 18 cm x 17 cm. Cada maceta contó con 2 plantas (*Eleusine indica* y *Commelina diffusa*) y para cada concentración del producto (incluyendo los controles), se consideraron 5 repeticiones.

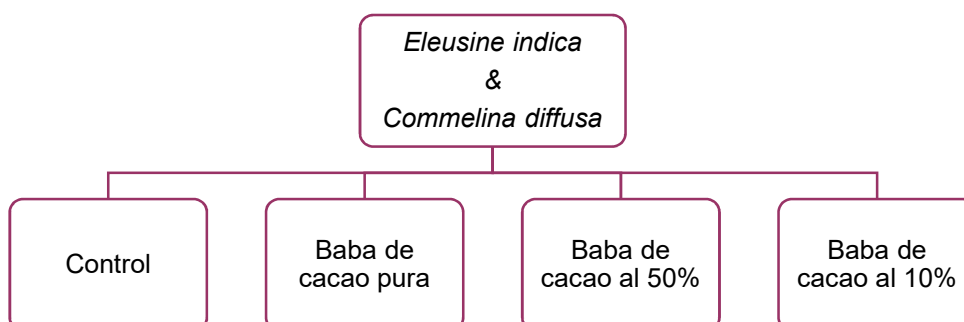


Figura 2.5.- Concentraciones utilizadas para evaluar el producto en malezas de hoja angosta y hoja ancha.

Como se presenta en la Figura 2.5, ambas especies de malezas fueron sometidas a tres concentraciones del producto: baba de cacao pura (100%), baba de cacao al 50% y al 10%. Estas dos últimas fueron diluidas en agua (de acuerdo con su concentración) y cada maleza fue rociada con 50 ml del producto de tal manera que para esta fase del proyecto se necesitaron 800 ml de baba de cacao y 700 ml de agua.

2.2.3 Evaluación de la selectividad del producto mediante la escala ALAM

La Asociación Latinoamericana de Malezas (ALAM) estableció una escala visual que permite evaluar el daño que causa un producto con potencial herbicida sobre cualquier maleza, sin embargo, Luna & Druetta (2015) destacan que dicha escala es subjetiva. En la Tabla 2.2 se detalla la escala visual mencionada, destacando el porcentaje del control y la descripción del daño:

% Control	Descripción del daño
0	Ningún daño observado. No existe efecto alguno.
1 – 3	Poco daño.
4 – 6	Daño moderado.
7 – 9	Daño severo.
10	Muerte total y destrucción de las plantas.

Tabla 2.2.- Escala visual de acuerdo con la Asociación Latinoamericana de Malezas. (ALAM, 1974)

2.2.4 Control de malezas

Debido a que la infestación fue heterogénea, la ecuación de Henderson – Tilton (2.1) fue utilizada para determinar el porcentaje de eficacia del producto:

$$\text{Porcentaje de eficacia} = \left[1 - \left(\frac{C_a}{T_a} \right) \times \left(\frac{T_d}{C_d} \right) \right] \times 100 \quad (2.1)$$

Donde:

T_a = Infestación en los tratamientos antes de la aplicación.

C_a = Infestación en los controles antes de la aplicación.

C_d = Infestación en los controles después de la aplicación.

T_d = Infestación en los tratamientos después de la aplicación.

2.3 Evaluación in vitro

2.3.1 Selección de hongos fitopatógenos

Los hongos fitopatógenos que se utilizaron en este proyecto de investigación fueron: *Colletotrichum* sp., *Curvularia* sp., *Pseudocercospora fijiensis* y *Fusarium oxysporum*. Adicional a esto, se aisló a *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* sp. para lo cual se llevó a cabo la siguiente metodología:

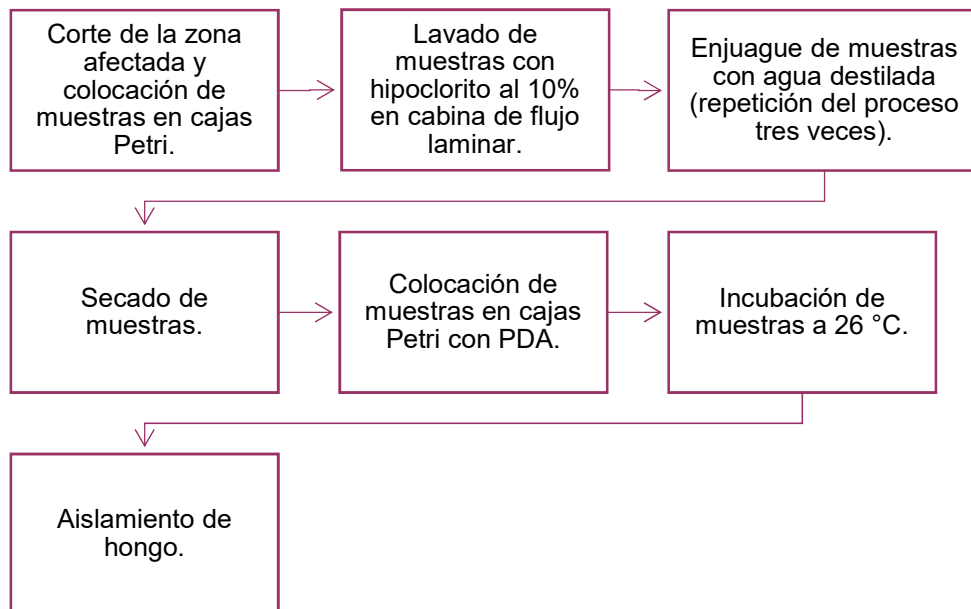


Figura 2.6.- Metodología empleada para aislar hongos de *Theobroma cacao*.

2.3.2 Establecimiento de cajas control, repeticiones y dosificación del producto

Para determinar el número de cajas Petri a utilizar para los controles, así como para los tratamientos, se procedió a identificar el número de repeticiones por cada concentración:

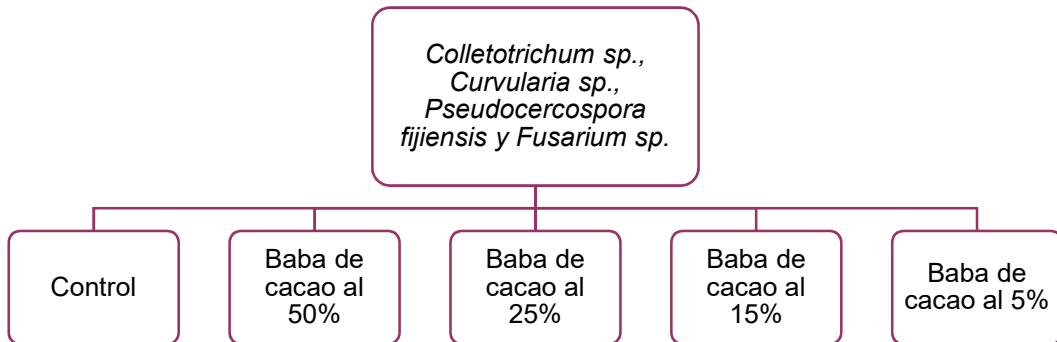


Figura 2.7.- Concentraciones utilizadas para evaluar la influencia de la baba de cacao en el crecimiento y desarrollo de hongos fitopatógenos.

Como se aprecia en la Figura 2.7, se llevaron a cabo 5 tratamientos por cada concentración (a excepción de los controles, ya que se emplearon 3 cajas Petri por cada género de hongo), utilizando un total de 115 unidades. Por otra parte, para determinar la eficacia del producto en hongos fitopatógenos comunes de plantaciones de cacao, se emplearon 12 cajas Petri totales.

Por otra parte, la evaluación de *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora sp.* consistió en determinar la eficacia del producto a una concentración del 50% por lo que se utilizaron 12 cajas Petri adicionales (3 para los controles y 3 para los tratamientos, por cada microorganismo).

2.3.3 Preparación de medios de cultivo

2.3.3.1 Agar Papa Dextrosa (PDA) y Agar Agua (AA)

Para la evaluación in vitro se prepararon 1200 ml de medio PDA y AA, los cuales fueron almacenados en dos matraces de 300 ml y un matraz de 600 ml. En base a estas capacidades volumétricas, se utilizó la siguiente ecuación para determinar cuántos gramos de medio deshidratado debió diluirse en agua destilada para obtener medio PDA y AA:

$$x (g) = \frac{\text{Capacidad del matraz} \times \text{Peso del medio deshidratado por cada } 1000\text{ml}}{1000 \text{ ml}} \quad (2.2)$$

2.3.4 Inoculación de hongos e incubación de muestras

2.3.4.1 Preparación de cajas Petri

2.3.4.1.1 Controles

Para preparar las cajas Petri control se utilizaron 2 cajas sin división y una caja Petri dividida por cada género de hongo. En las cajas que presentaban división se utilizaron 5 ml de medio PDA y AA mientras que las cajas Petri no divididas, almacenaron 10 ml de los medios mencionados.

2.3.4.1.2 Evaluación del producto – concentración al 50%

Para esta sección se emplearon 25 cajas Petri de una división y se llevó el volumen total del producto al 100% de manera que se colocó 50 ml de medio (PDA y AA) y 50 ml de baba de cacao pura. Adicional a esto, se agregaron 2.6 g de agar deshidratado para solidificar los medios.

2.3.4.1.3 Evaluación del producto – concentración al 25%

Al igual que en el punto anterior, se usaron 25 cajas Petri divididas, sin embargo, la concentración cambió por lo que se colocaron 25 ml de baba de cacao pura y 75 ml de medio, tanto PDA como AA y, de la misma manera se añadieron 2.6 g de agar deshidratado para lograr la solidificación del medio.

2.3.4.1.4 Evaluación del producto – concentración al 15%

Se necesitaron 25 cajas Petri divididas y, debido a que la concentración de la baba de cacao se redujo, se emplearon 15 ml de esta y 85 ml de medio PDA y AA. En este caso se incorporaron 2.6 g de agar deshidratado para lograr que el medio pueda solidificarse.

2.3.4.1.5 Evaluación del producto – concentración al 5%

En este caso, la concentración de baba de cacao es baja por lo tanto no se necesitó agregar agar deshidratado, no obstante, se emplearon 5 ml de baba y 95 ml de medio PDA y AA para cubrir 25 cajas Petri de una división.

2.3.5 Evaluación de la carga microbiana de la baba de cacao

Se sembró la baba de cacao bajo diferentes tipos de fermentación (alcohólica y acética) estéril y sin esterilizar en 12 cajas Petri para determinar el crecimiento de microorganismos como hongos, bacterias o levaduras. Para este proceso se colocaron 0.3 µl de las muestras mencionadas, utilizando un total de 7.2 µl de baba estéril y 7.2 µl de baba sin esterilizar.

2.3.5.1 Tinción de Gram para determinar microorganismos presentes en la baba de cacao

Se preparó el frotis con las muestras del crecimiento obtenido de baba de cacao fresca y de 10 semanas, esterilizada y sin esterilizar. Se colorearon los ejemplares con cristal violeta o violeta de Genciana y se esperaron 60 segundos para proceder a retirar el colorante con agua destilada. Luego se colocó lugol y del mismo modo se esperó un minuto para ser lavado. Inmediatamente se colocó alcohol y fue lavado con agua para que, finalmente la safranina sea colocada en las muestras durante 60 segundos y sea nuevamente lavada. Una vez llevado a cabo

el proceso de tinción se dejó secar al aire el portaobjetos con la finalidad de poder observar las muestras en el microscopio.

2.3.6 Evaluación del producto al 100%

Los controles de los hongos fitopatógenos utilizados para determinar la efectividad del producto a diversas concentraciones fueron empleados con la finalidad de conocer el comportamiento de dichos microorganismos al entrar en contacto con el producto puro esterilizado y sin esterilizar.

2.3.7 Efectividad del producto con potencial fungicida

Para determinar el potencial fungicida del producto diseñado, se utilizó la ecuación de Abbott (2.3):

$$E = \left(\frac{IT-it}{IT} \right) * 100 \quad (2.3)$$

En la que:

E: porcentaje de Eficacia

IT: Porcentaje de infección en el control

it: Porcentaje de infección en el tratamiento

Adicional a esta ecuación, se midieron las colonias de los hongos fitopatógenos previamente sembrados en los controles para su posterior comparación con las repeticiones (R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅) para así determinar si estos microorganismos crecen en presencia de la baba de cacao.

2.4 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar si estadísticamente existían diferencias significativas en la aplicación del producto a diferentes concentraciones a las malezas de hoja ancha y angosta. En conjunto con el programa R versión 4.1.0, se utilizó la prueba univariante de Pillai por cada una de las variables evaluadas y se trabajó con un nivel de significancia del 5%.

Las hipótesis planteadas fueron las siguientes:

- H_0 : Las medias de las variables evaluadas para cada tratamiento son iguales.
- H_a : Las medias de las variables evaluadas para cada tratamiento son diferentes.

2.5 Viabilidad económica del proyecto

De acuerdo con Pérez (2021), la viabilidad económica de un proyecto comprende aquellos recursos económicos que son necesarios para poder desarrollarlo a través del uso de indicadores financieros, tales como:

2.5.1 Valor Actual Neto (VAN)

Este indicador financiero se encarga de medir los ingresos y egresos que tendrá un proyecto a futuro para conocer si se obtienen ganancias una vez que se haya descontado el monto invertido inicialmente (Muñoz, 2010)

La ecuación utilizada para calcular el valor actual neto es la siguiente:

$$VAN = -I_0 + \sum_{t=1}^n \frac{F_t}{(1+k)^t} = -I_0 + \frac{F_1}{(1+k)} + \frac{F_2}{(1+k)^2} + \dots + \frac{F_n}{(1+k)^n} \quad (2.4)$$

Donde:

F_t : es el flujo de caja en el periodo t

I_0 : es la inversión inicial

n : es el número de periodos de tiempo

k : es el tipo de descuento o interés exigido a la inversión

El valor actual neto es usado para conocer si las decisiones a tomar pueden ser ejecutadas y qué inversión es mejor que otra. Estas decisiones se fundamentan en tres criterios:

1. $VAN > 0$: El proyecto generará beneficios.

2. VAN = 0: No se generarán beneficios ni pérdidas.
3. VAN < 0: El proyecto generará pérdidas.

2.5.2 Tasa Interna de Retorno (TIR)

Es la tasa de interés con la cual el valor actual neto (VAN) de una inversión es igual a cero (Muñoz, 2010). Su ecuación se determina de la siguiente manera:

$$VAN = -I_0 + \sum_{t=1}^n \frac{F_t}{(1+TIR)^t} = -I_0 + \frac{F_1}{(1+TIR)} + \frac{F_2}{(1+TIR)^2} + \dots + \frac{F_n}{(1+TIR)^n} = 0$$

(2.5)

Donde:

F_t : es el flujo de caja en el periodo t

I_0 : es la inversión inicial

n: es el número de periodos de tiempo

En los resultados se identifica a la variable "k" como el costo de oportunidad:

Si la TIR > k; el proyecto es viable.

Si la TIR = k; el proyecto no generará beneficios ni pérdidas.

Si la TIR < k; el proyecto debe ser rechazado.

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 Evaluación in vivo

3.1.1 Eficacia del producto aplicado en *Commelina diffusa* y *Eleusine indica*

La validación del producto a diferentes concentraciones fue determinada mediante la evaluación de variables como altura de la planta, número de hojas (cloróticas, quemadas y verdes), escala de evaluación de acuerdo con la Asociación Latinoamericana de Malezas y número de flores (quemadas y vivas). De la misma manera, la eficacia del producto obtenida con la Ecuación 2.1 fue clasificada de acuerdo con tipo de fermentación por la que atravesó la baba de cacao: alcohólica y acética, así como el tiempo que permaneció almacenada.

	Eficacia (%) – Baba de 5 semanas / fermentación alcohólica	
	<i>Commelina diffusa</i>	<i>Eleusine indica</i>
Producto puro	0	20
Producto al 50%	0	0
Producto al 10%	0	0

Tabla 3.1.- Porcentaje de eficacia para *Commelina diffusa* y *Eleusine indica*.

	Eficacia (%) – Baba fresca / fermentación alcohólica	
	<i>Commelina diffusa</i>	<i>Eleusine indica</i>
Producto puro	0	0
Producto al 50%	0	0
Producto al 10%	0	0

Tabla 4.2.- Porcentaje de eficacia para *Commelina diffusa* y *Eleusine indica*.

	Eficacia (%) – Baba de 10 semanas / fermentación acética	
	<i>Commelina diffusa</i>	<i>Eleusine indica</i>
Producto puro	80	100
Producto al 50%	20	100
Producto al 10%	0	0

Tabla 5.3.- Porcentaje de eficacia para *Commelina diffusa* y *Eleusine indica*.

3.1.2 Análisis estadístico de las variables medidas

Una vez conocido el tipo de fermentación que cumplía la característica del potencial herbicida, se realizó el ANOVA para conocer las diferencias significativas en base a la hipótesis planteada en la sección 2.4 considerando las variables evaluadas más relevantes durante la aplicación del producto sometido a una fermentación aerobia, es decir, en presencia de oxígeno.

3.1.2.1 ANOVA: *Canutillo – Commelina diffusa*

Respuesta: Altura					
	Grados de libertad (Df)	Suma Sq	Error SS	Valor F	Pr(>F)
(Intercept)	16	16598.5	2935.21	90.4795	0.00000005484 ***
Tratamientos	16	696.2	2935.21	1.2651	0.31979
Trials	96	30.3	695.27	0.6969	0.65269
Tratamientos: Trials	96	242.3	695.27	1.8588	0.02879 *
Código de significancia: 0 '****' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1					

Tabla 6.4.- ANOVA para la variable *altura*.

Como se aprecia en la tabla 3.4, no existió significancia del efecto del tiempo (Trials), ni efecto del tratamiento (Tratamientos) ni un efecto combinado del tratamiento con el tiempo (Tratamientos: Trials) por lo que no se generó

evidencia significativa entre las medias de la variable altura para comprobar que eran diferentes, por lo tanto, se confirmó la homogeneidad (se aceptó H_0).

Por otra parte, en la figura 3.1 se observan los cambios de la variable en el tiempo, conociendo así que, a concentraciones del 100%, se evidenció mortandad en las plantas.

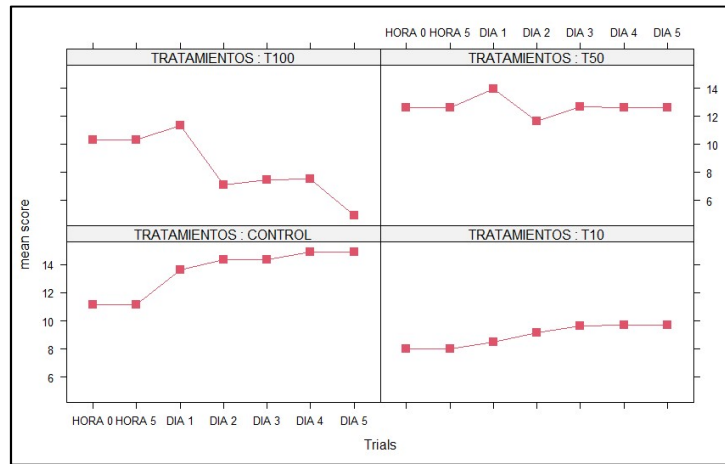


Figura 1.1.- Efectos de la variable *altura* en el tiempo.

Respuesta: Número de hojas verdes					
	Grados de libertad (Df)	Suma Sq	Error SS	Valor F	Pr(>F)
(Intercept)	16	1278.06	165.314	123.698	0.000000006136 ***
Tratamientos	16	444.48	165.314	14.340	0.000084846245 ***
Trials	96	348.89	84.286	66.229	< 2.2e-16 ***
Tratamientos: Trials	96	213.97	84.286	13.539	< 2.2e-16 ***
Código de significancia: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1					

Tabla 7.5.- ANOVA para la variable *número de hojas verdes*.

La tabla 3.5 indica que existió significancia del efecto del tiempo (Trials), el tratamiento (Tratamientos) así como un efecto combinado del tratamiento con el tiempo (Tratamientos: Trials) por lo que se generó evidencia significativa entre las medias de la variable evaluada para comprobar que no todos los tratamientos presentaron el mismo número de hojas.

En la figura 3.2 se presentan los cambios de la variable en el tiempo, de manera que el canutillo, a cualquier concentración del producto, disminuyó el número de hojas verdes y esto se debió a que, por acción de la baba de cacao fermentada, el follaje se volvió clorótico o tendió a quemarse debido al pH ácido.

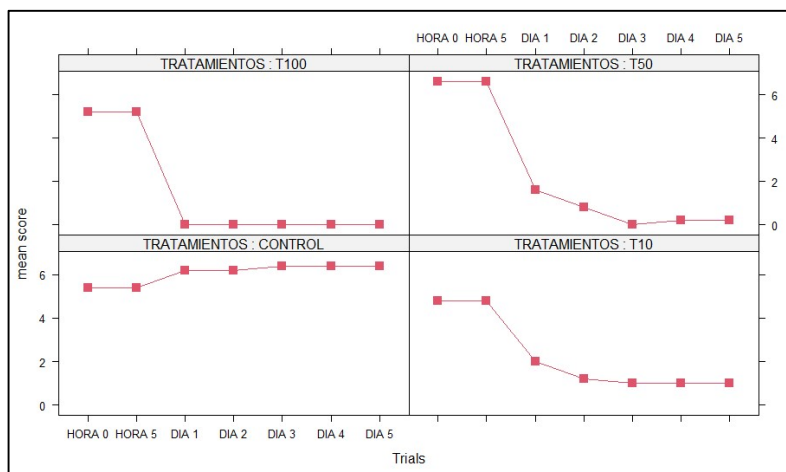


Figura 2.2.- Efectos de la variable *número de hojas verdes* en el tiempo.

3.1.2.2 ANOVA: Pata de gallina – *Eleusine indica*

Respuesta: Altura					
	Grados de libertad (Df)	Suma Sq	Error SS	Valor F	Pr(>F)
(Intercept)	16	16204.6	479.12	541.1409	9.204e-14 ***
Tratamientos	16	160.0	479.12	1.7815	0.19119
Trials	96	5.2	136.78	0.6115	0.72056
Tratamientos: Trials	96	46.1	136.78	1.7963	0.03653 *
Código de significancia: 0 '****' 0.001 '***' 0.01 '**' 0.05 '*' 0.1 '.' 1					

Tabla 8.6.- ANOVA para la variable *altura*.

De acuerdo con la tabla 3.6, no existió significancia del efecto del tiempo (Trials), ni efecto del tratamiento (Tratamientos) ni un efecto combinado del tratamiento con el tiempo (Tratamientos: Trials) por lo que no existió evidencia significativa

entre las medias de la variable altura para comprobar que eran diferentes, por lo que se confirmó la homogeneidad de medias.

En la figura 3.3 se observan los cambios de la variable en el tiempo, evidenciando que, a diferencia de los controles, los tratamientos presentaron efectos muy parecidos por cada concentración evaluada.

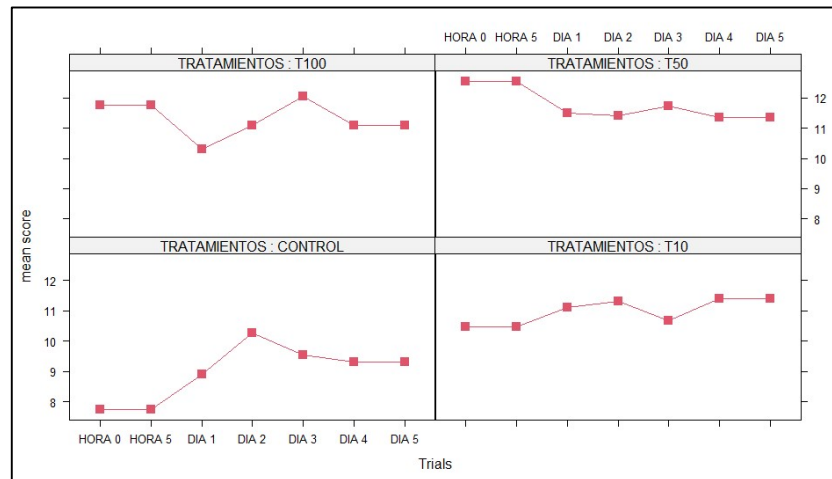


Figura 3.3.- Efectos de la variable *altura* en el tiempo.

Respuesta: Número de hojas verdes					
	Grados de libertad (Df)	Suma Sq	Error SS	Valor F	Pr(>F)
(Intercept)	16	63502	8478.3	120.0277	0.000000007604 ***
Tratamientos	16	14237	8478.3	8.9557	0.001028 **
Trials	96	12904	4578.5	45.0933	< 2.2e-16 ***
Tratamientos: Trials	96	5263	4578.5	6.1305	0.00000001233 ***
Código de significancia: 0 '****' 0.001 '***' 0.01 '**' 0.05 '*' 0.1 '.' 1					

Tabla 9.7.- ANOVA para la variable *número de hojas verdes*.

La tabla 3.7 indica que existió significancia del efecto del tiempo (Trials), el tratamiento (Tratamientos) así como un efecto combinado del tratamiento con el tiempo (Tratamientos: Trials) por lo que se generó evidencia significativa entre

las medias de la variable evaluada para comprobar que no todos los tratamientos presentaron el mismo número de hojas.

La figura 3.4 muestra los cambios de la variable en el tiempo, de manera que la pata de gallina a cualquier concentración del producto disminuyó el número de hojas verdes por las mismas razones ocurridas para el canutillo; el pH ácido de la baba de cacao sometida a una fermentación acética provocó que las hojas se quemaran o volvieran cloróticas.

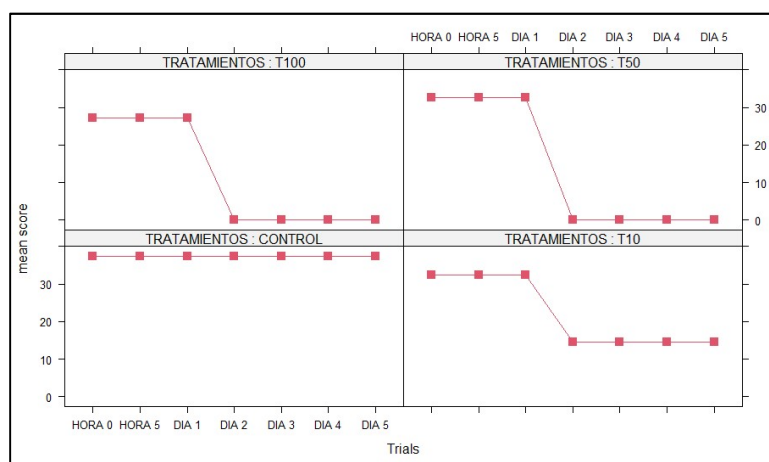


Figura 4.4.- Efectos de la variable *número de hojas verdes* en el tiempo.

3.1.3 Eficacia del producto sobre hongos fitopatógenos seleccionados.

Para determinar el potencial fungicida del producto se evaluó el crecimiento de las colonias de 6 hongos fitopatógenos sometidos a concentraciones de baba de cacao del 50%, 25%, 15% y 5%. Como se aprecia en la figura 3.5, el género *Colletotrichum sp.* pudo ser controlado a cualquier concentración del producto mientras que para el género *Curvularia sp.* se alcanzó una eficacia máxima del 34% al 5% de concentración.

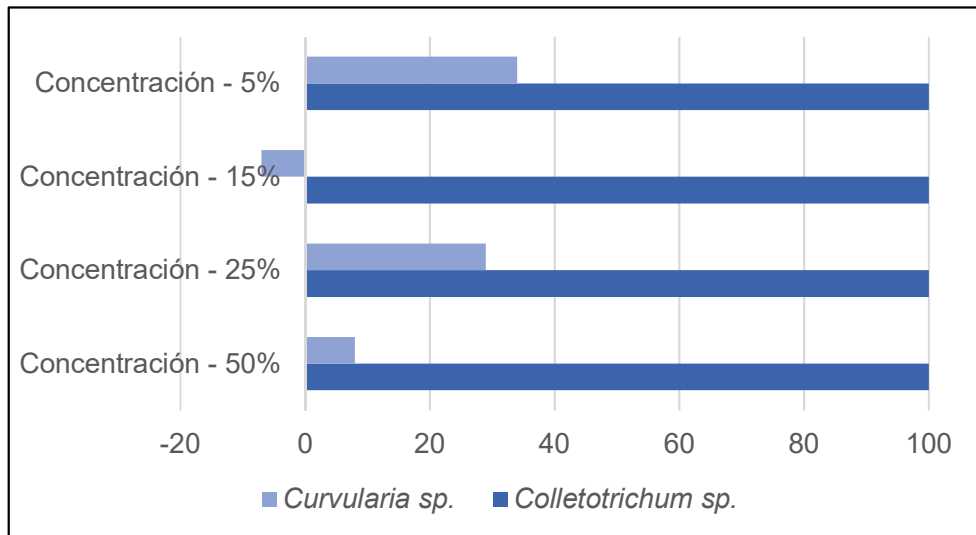


Figura 5.5.- Eficacia de la baba de cacao sobre los géneros *Curvularia sp.* y *Colletotrichum sp.*

Por otra parte, para el hongo causante de la sigatoka negra en banano se alcanzó una eficacia mayor al 60% por cada una de las concentraciones evaluadas. *Fusarium oxysporum*, otro hongo que afecta al banano pudo ser controlado a las concentraciones planteadas ya que se obtuvo una eficacia mayor al 86% por cada una de ellas (Figura 3.6).

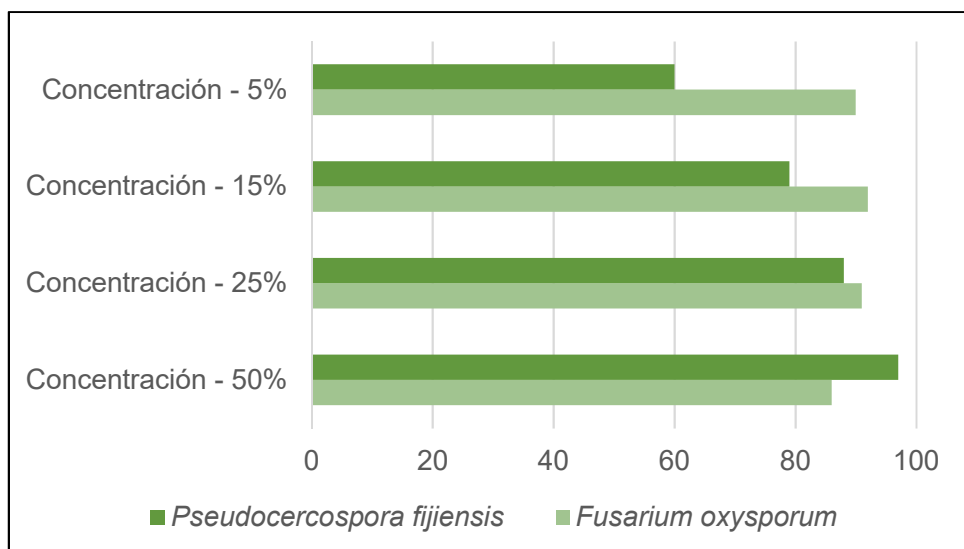


Figura 6.6.- Eficacia de la baba de cacao sobre *Pseudocercospora fijiensis* y *Fusarium oxysporum*.

La implementación de un residuo de cosecha de cacao para elaborar un producto con potencial fungicida puede ser utilizado en las mismas plantaciones de cacao ya que a un 50% de concentración se controló al hongo causante de la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) y al género *Phytophthora sp.* ya que se alcanzó una eficacia del 100%, tal como se muestra en la figura 3.7.

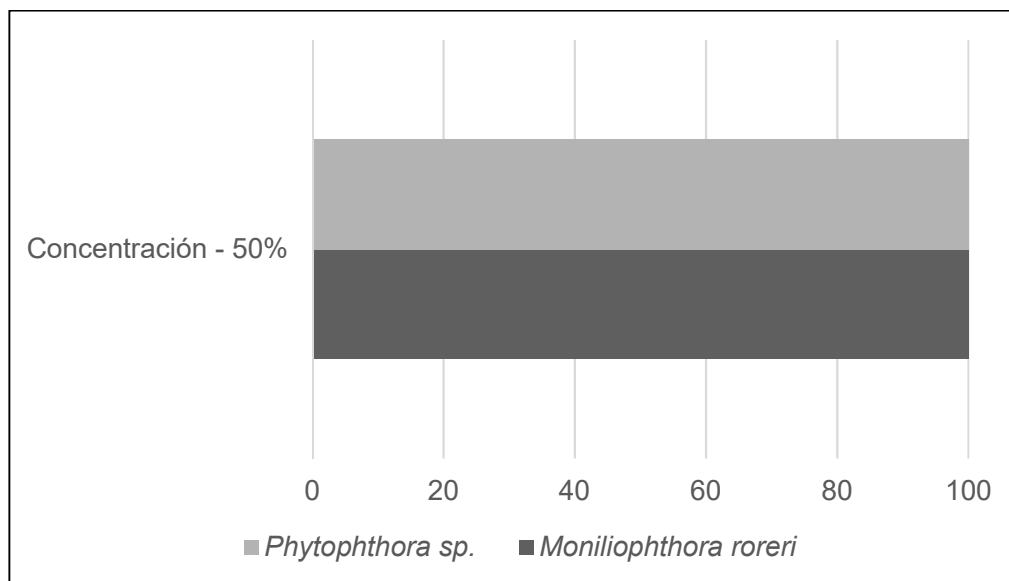


Figura 7.7.- Eficacia de la baba de cacao sobre *Phytophthora sp.* y *Moniliophthora roreri*.

3.1.4 Evaluación de la carga microbiana del producto.

3.1.4.1 Baba fresca

Se determinó el crecimiento de posibles microorganismos causantes de la fermentación de la baba de cacao y mediante la observación en el microscopio de las muestras sometidas a la tinción de Gram, se determinó la presencia de levaduras como *Saccharomyces cerevisiae* y bacterias como *Acetobacter sp.* en la baba sin esterilizar. Por otra parte, no hubo crecimiento alguno en las cajas sembradas con baba esterilizada, tal como se presenta en la figura 3.8.

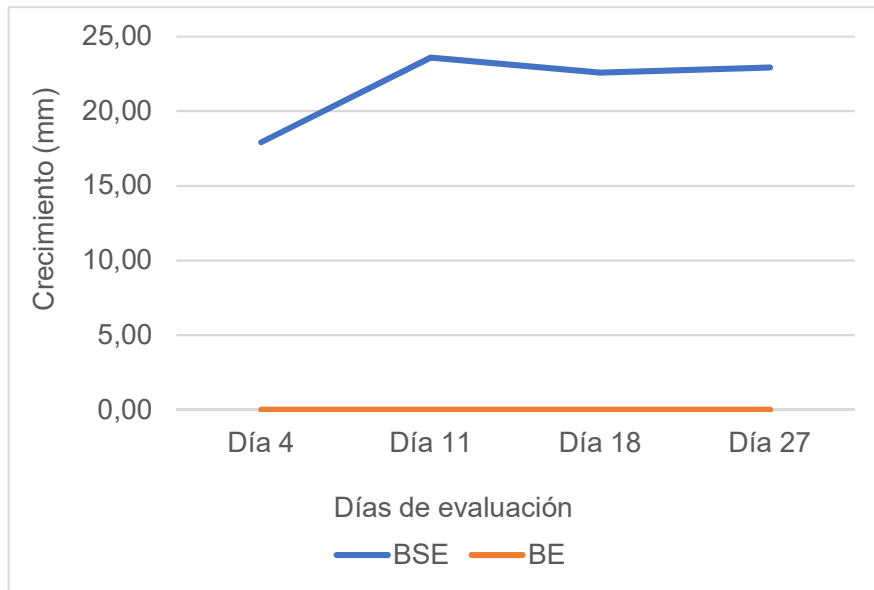
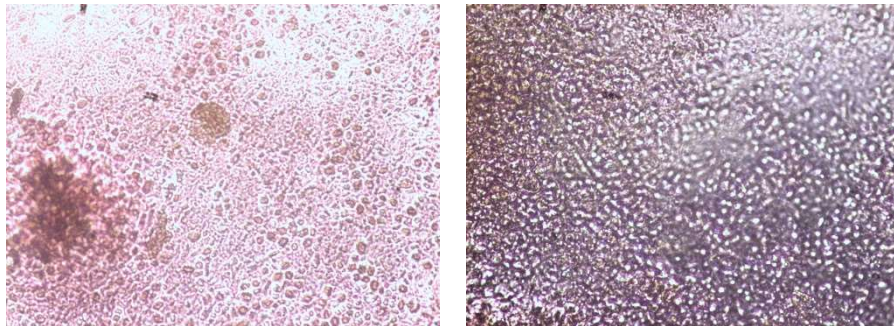


Figura 8.8.- Crecimiento de la baba de cacao fresca, esterilizada y sin esterilizar.



Figuras 9.9 y 3.10.- *Saccharomyces cerevisiae* y *acetobacter sp.*

3.1.4.2 Baba de 10 semanas

Al igual que la sección anterior se determinó el crecimiento de la baba de cacao esterilizada y sin esterilizar, así como la presencia de microorganismos presentes en la misma. Se encontró levaduras como *Saccharomyces cerevisiae* y bacterias como *Lactobacillus sp.*, sin embargo, al igual que la sección anterior,

no se determinó crecimiento alguno para la baba esterilizada (figuras 3.11 y 3.12).

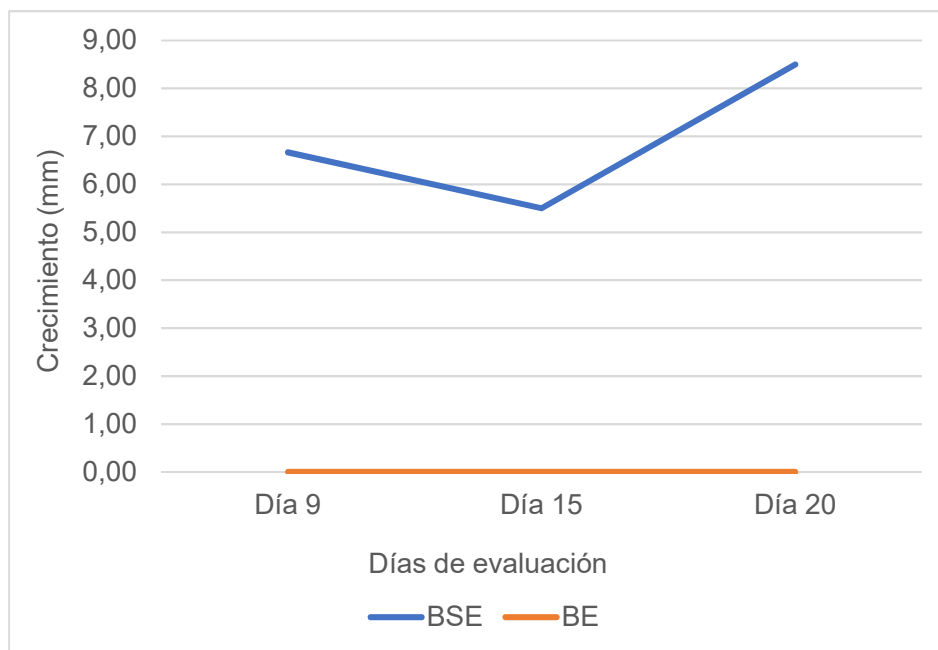


Figura 10.11.- Crecimiento de la baba de cacao de 10 semanas, esterilizada y sin esterilizar.

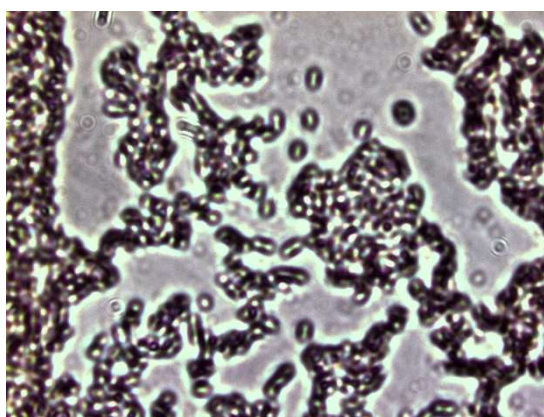


Figura 11.12.- Presencia de *Lactobacillus sp.* en la baba de cacao sin esterilizar de 10 semanas.

3.1.5 Evaluación del producto al 100% de concentración.

Para cada uno de los hongos fitopatógenos se determinó el crecimiento de las colonias con la finalidad de conocer si algún microorganismo que forma parte de la composición de la baba de cacao es el responsable de inhibir su desarrollo.

3.1.5.1 *Baba sin esterilizar*

Debido a que la baba utilizada para esta evaluación presentaba 24 horas de haber sido recolectada en el campo y por razones de almacenamiento, se generaron condiciones anaeróbicas para su fermentación, por lo que la presencia de bacterias encargadas de producir ácido láctico lograron inhibir el crecimiento de los hongos fitopatógenos seleccionados.

Hongo fitopatógeno	Descripción
<i>Colletotricum sp.</i>	Sin crecimiento de colonias. Presencia de grumos.
<i>Curvularia sp.</i>	
<i>Fusarium oxysporum</i>	
<i>Pseudocercospora fijiensis</i>	
<i>Moniliophthora roreri</i>	
<i>Phytophthora sp.</i>	

Tabla 10.8.- Evaluación de los hongos fitopatógenos al ser sometidos a una concentración de baba de cacao sin esterilizar al 100%.

3.1.5.2 *Baba esterilizada*

La baba de cacao fue esterilizada con ayuda del autoclave y para este proceso se alcanzaron temperaturas superiores a 100°C por lo que se destruyeron las bacterias presentes en el medio de evaluación, razón por la cual, hongos de rápido crecimiento pudieron desarrollarse sin problema alguno. De manera detallada, en la tabla 3.8 y la figura 3.10 se presentan los resultados obtenidos de la evaluación realizada:

Hongo fitopatógeno	Descripción
<i>Colletotricum sp.</i>	Desarrollo de colonias.
<i>Curvularia sp.</i>	Hongo creció y absorbió la baba de cacao.
<i>Fusarium oxysporum</i>	Sin crecimiento.
<i>Pseudocercospora fijiensis</i>	Crecimiento de colonias.
<i>Moniliophthora roreri</i>	Sin crecimiento.
<i>Phytophthora sp.</i>	Hongo creció y absorbió la baba de cacao.

Tabla 11.9.- Evaluación de los hongos fitopatógenos al ser sometidos a una concentración de baba de cacao esterilizada al 100%.

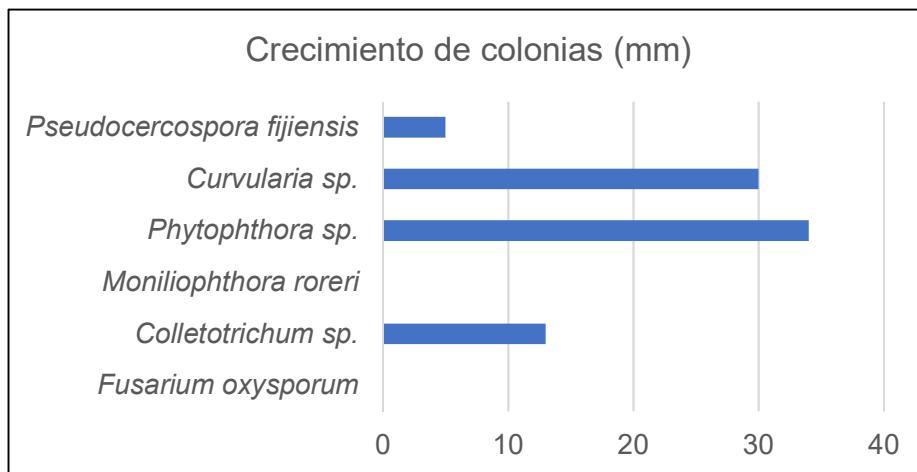


Figura 12.13.- Crecimiento de colonias de hongos fitopatógenos sometidos a concentración del 100% de baba de cacao esterilizada.

3.1.6 Rentabilidad del producto con potencial herbicida y fungicida.

La generación de nuevos emprendimientos vinculados al reciclaje de un residuo de cosecha suman importancia en la actualidad ya que, con la obtención de productos fitosanitarios, se reduciría el impacto ecológico, se disminuirían costos en las fincas, así como la introducción de insumos externos a las mismas.

Un productor inicial, con una inversión inicial de \$2036,12 puede generar una tasa interna de retorno del 36,6% durante los 5 primeros años,

mientras que una persona externa al invertir \$5136,40 puede producir una TIR del 39,60% durante el mismo periodo, por lo que se determinó que este proyecto es rentable y económicamente factible (tablas 3.8 y 3.9).

TIR Y VAN	
TMAR	12,00%
TIR	36,60%
VAN	\$5.050,60

Tabla 12.10.- Evaluación de rentabilidad del proyecto para productores de cacao. Autores: Christian López e Isaac Espinoza.

TIR Y VAN	
TMAR	12,00%
TIR	39,60%
VAN	\$13.664,13

Tabla 13.11.- Evaluación de rentabilidad del proyecto para personas externas. Autores: Christian López e Isaac Espinoza.

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

1. Se determinó el potencial herbicida y fungicida de la baba de cacao siendo más efectivas las concentraciones del 100% y 50% para malezas y todas las concentraciones evaluadas para los hongos fitopatógenos, a excepción del género *Curvularia sp.* cuya eficacia máxima fue del 34% a un 5% de concentración.
2. La presencia de bacterias (*Lactobacillus sp.* y *acetobacter sp.*) y levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) en la baba de cacao sin esterilizar tanto fresca como de 10 semanas, fueron determinantes en el proceso de fermentación del producto para que cumpla con el potencial requerido para eliminar malezas y controlar el crecimiento de hongos fitopatógenos.
3. El pH también fue determinante para la evaluación del crecimiento de colonias de hongos fitopatógenos ya que a concentraciones del 50% y 25% de baba de cacao, el medio presentó un pH de 3,5 mientras que a concentraciones de 15% y 5%, cambió a 4,5 y 5,5 respectivamente (tanto para PDA y AA). Pero a pesar de que los hongos pueden desarrollarse en un pH ácido, la baba de cacao logró inhibir el crecimiento de estos microorganismos.

4.2 Recomendaciones

1. Evaluar el potencial herbicida del producto en malezas que han generado resistencia a herbicidas sintéticos como la caminadora (*Rottboellia cochinchinensis*) para determinar su eficacia.

2. Determinar la eficacia del producto en campo, por medio de la selección de parcelas demostrativas en las que exista un alto contenido de malezas, así como de hongos fitopatógenos.
3. Analizar el potencial herbicida del producto a concentraciones del 40% y 20% para determinar su efectividad.
4. Identificar el potencial fungicida de la baba de cacao para hongos fitopatógenos de los géneros: *Botrytis sp.*, *Penicillium sp.*, *Blumeria sp.* y *Oidium sp.*

BIBLIOGRAFÍA

- Agroterra. (8 de Junio de 2021). *Herbicidas, clasificación y uso*. Obtenido de Agroterra: <https://blog.agroterra.com/descubrir/herbicidas-uso/77614/>
- ALAN. (2016). *Alcaloides y polifenoles del cacao, mecanismos que regulan su biosíntesis y sus implicaciones en el sabor y aroma*. Obtenido de ALAN: Archivos Latinoamericanos de Nutrición: <https://www.alanrevista.org/ediciones/2016/3/art-10/>
- ANECACAO. (s.f.). *Historia del cacao*. Obtenido de ANECACAO: <http://www.anecacao.com/es/quienes-somos/historia-del-cacao.html#:~:text=La%20d%C3%A9cada%20de%201920%20es,reduce%20la%20producci%C3%B3n%20al%2030%25>
- Avalos, C. (2009). Lo bueno y lo malo: El polémico uso de los agroquímicos. *Generación*, 10 - 15.
- Bravo-Inclán, L., Saldaña-Fabela, P., Izurieta-Dávila, J., & Mijangos-Carro, M. (2013). *La importancia de la contaminación difusa en México y en el mundo*. Obtenido de https://www.cmic.org.mx/comisiones/sectoriales/infraestructurahidraulica/noticias_principales/contaminacion_difusa/contaminacion.pdf
- Cobos, E. (2021). Ecuador tiene en el cacao una oportunidad de oro. *Gestión*.

- Coronel, J. A., & Román, E. J. (2015). *ANÁLISIS DE LOS NIVELES DE DESPERDICIO DEL MUCÍLAGO DE CACAO Y SU APROVECHAMIENTO COMO ALTERNATIVA DE BIOCOMBUSTIBLE*. Milagro.
- DIMEFAR. (2021). *¿Qué es el metabolismo secundario de las plantas y por qué le debemos tanto?* Obtenido de DIMEFAR: <https://dimefar.com/es/blog/que-es-el-metabolismo-secundario-de-las-plantas-y-por-que-le-debemos-tanto-n121>
- Estrella, Y. A. (2013). *ESTUDIO DEL DESPERDICIO DEL MUCÍLAGO DE CACAO EN EL CANTÓN NARANJAL (PROVINCIA DEL GUAYAS)*. Milagro.
- Fungicide Resistance Action Committee. (12 de Marzo de 2019). *Clasificación de fungicidas y bactericidas según el modo de acción*. Obtenido de ISSUU: https://issuu.com/kenogard/docs/folleto_clasificacio_n_de_fungicida
- González, C. G. (27 de Junio de 2019). *El papel de los metabolitos secundarios en la agricultura*. Obtenido de CIATEJ: <https://ciatej.mx/el-ciatej/comunicacion/Noticias/El-papel-de-los-metabolitos-secundarios-en-la-agricultura/124>
- Guadalupe, M., Ramírez, M. L., Jesus, H. J., & Quiñones, C. (Enero de 2013). *Metabolitos secundarios con actividad antifúngica hacia hongos xilófagos*. Obtenido de ResearchGate: https://www.researchgate.net/publication/264896579_Metabolitos_secundarios_con_actividad_antifungica_hacia_hongos_xilofagos
- Hussein, R. A., & El-Anssary, A. A. (25 de Mayo de 2017). *Plants Secondary Metabolites: The Key Drivers of the Pharmacological Actions*

of *Medicinal Plants*. Obtenido de IntechOpen: <https://www.intechopen.com/books/herbal-medicine/plants-secondary-metabolites-the-key-drivers-of-the-pharmacological-actions-of-medicinal-plants>

- Kalvatchev, Z., Garzaro, D. J., & Cedezo, F. G. (1998). THEOBROMA CACAO L.: Un nuevo enfoque para nutrición y salud. *Agroalimentaria*, 23 - 25.
- Knauss, N. (17 de Enero de 2014). *Understanding Synthetic, Natural, Organic and Chemical Pesticide Designations*. Obtenido de PennState Extension: <https://extension.psu.edu/understanding-synthetic-natural-organic-and-chemical-pesticide-designations>
- Luna, I., & Druetta, M. (2015). *Uso de la tecnología Clearfield en maíz para el manejo de Pappophorum papiferum en la región Noreste de Santiago del Estero*. Obtenido de Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria: https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta-uso_de_la_tecnologia_clearfield_en_maiz_para_el_manejo_de_pappophorum_papiferum_en_la_region_noreste_de_santiago_del_estero.pdf
- McGrath, M. T. (2014). *¿Qué son los fungicidas?* Obtenido de APS: <https://www.apsnet.org/edcenter/disimpactmngmnt/topc/Pages/fungicidesSpanish.aspx>
- Modern Pest Services. (18 de Julio de 2018). *What Are Natural Pesticides?* Obtenido de Modern Pest Services: <https://www.modernpest.com/blog/what-are-natural-pesticides/>
- Muñoz, M. P. (2010). *VAN y TIR*. Chile.

- National Pesticide Information Center. (2 de Agosto de 2019). *Fungicides*. Obtenido de NPIC: <http://npic.orst.edu/ingred/ptype/fungicide.html>
- Oklahoma Farm Bureau Foundation for Agriculture. (2021). *What are Herbicides and How are they Regulated?* Obtenido de Oklahoma Farm Bureau Foundation for Agriculture: <https://okfbfoundationforagriculture.org/what-are-herbicides-and-how-are-they-regulated/>
- Pérez, A. (24 de Abril de 2021). *VAN y TIR, dos herramientas para la viabilidad y rentabilidad de una inversión*. Obtenido de OBS: <https://www.obsbusiness.school/blog/van-y-tir-dos-herramientas-para-la-viabilidad-y-rentabilidad-de-una-inversion>
- Pingali, P. L. (31 de Julio de 2012). *Green Revolution: Impacts, limits, and the path ahead*. Obtenido de PNAS: <https://www.pnas.org/content/109/31/12302>
- Plant & Soil Science eLibrary. (s.f.). *Los ocho modos de acción*. Obtenido de Plant & Soil Science eLibrary: <https://passel2.unl.edu/view/lesson/c6f27ffb3c0a/5>
- SAE. (21 de Marzo de 2018). *La producción de cacao en Ecuador puede mejorar su calidad gracias a la ISO 2451*. Obtenido de Servicio de Acreditación Ecuatoriano: <https://www.acreditacion.gob.ec/cacao-en-ecuador-mejora-su-calidad/#:~:text=Seg%C3%BAn%20datos%20de%20la%20Organizaci%C3%B3n,por%20800%20millones%20de%20d%C3%B3lares.>
- Teoh, E. S. (5 de Noviembre de 2015). *Secondary Metabolites of Plants*. Obtenido de PMC: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7123774/#:~:text=Second>

ary%20metabolites%20are%20substances%20manufactured,and%20on%20other%20living%20organisms.

- Yaguana, G., Sánchez, F., Aguilar, M., & Pozo, E. (2019). *Contaminación de suelos: el caso de los plaguicidas*. Obtenido de UTN: <http://www.utn.edu.ec/ficayaemprende/?tag=suelos&print=print-search>
- Ynfante, R. M. (Noviembre de 2017). *Alelopatía de la maleza Rottboellia cochinchinensis (Lour.) W.D. Clayton sobre otras plantas y el crecimiento in vitro de hongos fitopatógenos*. Obtenido de <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6128/1/CPA-2017-094.pdf>
- Zanuncio, J. C., Mourão, S. A., Martínez, L. C., Wilcken, C. F., Ramalho, F. S., Plata-Rueda, A., . . . Serrão, J. E. (6 de Septiembre de 2016). *Toxic effects of the neem oil (Azadirachta indica) formulation on the stink bug predator, Podisus nigrispinus (Heteroptera: Pentatomidae)*. Obtenido de NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5011654/>

ANEXOS

	Eficacia (%)				
	Día 2	Día 6	Día 8	Día 14	Día 21
Producto 50%	100	100	100	100	100
Producto 25%	100	100	100	100	100
Producto 15%	100	100	100	100	100
Producto 5%	100	100	100	100	100

Anexo 1.- Eficacia del producto sobre el género *Colletotrichum sp.* en medio PDA por cada día de evaluación.

	Eficacia (%)				
	Día 2	Día 6	Día 8	Día 14	Día 21
Producto 50%	100	100	100	100	100
Producto 25%	100	100	100	100	100
Producto 15%	100	100	100	100	100
Producto 5%	100	100	100	100	100

Anexo 2.- Eficacia del producto sobre el género *Colletotrichum sp.* en medio AA por cada día de evaluación.

	Eficacia (%)				
	Día 2	Día 6	Día 8	Día 14	Día 21
Producto 50%	100	64,40	42,41	33,33	28,45
Producto 25%	100	37,17	8,90	-5,41	-10,65
Producto 15%	100	58,12	31,24	20,42	18,32
Producto 5%	100	75,22	55,32	45,55	24,96

Anexo 3.- Eficacia del producto sobre el género *Curvularia sp.* en medio PDA por cada día de evaluación.

	Eficacia (%)				
	Día 2	Día 6	Día 8	Día 14	Día 21
Producto 50%	100	62,64	40,29	12,82	7,69
Producto 25%	100	75,82	60,07	36,63	28,94
Producto 15%	100	100,00	73,26	10,99	-6,96
Producto 5%	100	87,55	68,86	53,85	34,43

Anexo 4.- Eficacia del producto sobre el género *Curvularia sp.* en medio AA por cada día de evaluación.

	Eficacia (%)			
	Día 4	Día 6	Día 12	Día 19
Producto 50%	90,56	84,05	82,75	85,68
Producto 25%	92,84	87,63	90,56	90,56
Producto 15%	92,19	90,23	92,19	92,19
Producto 5%	91,86	86,98	88,61	89,91

Anexo 5.- Eficacia del producto sobre el hongo *Fusarium oxysporum* en medio PDA por cada día de evaluación.

	Eficacia (%)			
	Día 4	Día 6	Día 12	Día 19
Producto 50%	95,45	93,17	90,57	91,22
Producto 25%	100,00	98,05	97,72	96,10
Producto 15%	99,35	97,07	97,07	96,75
Producto 5%	100,00	98,05	94,31	85,85

Anexo 6.- Eficacia del producto sobre el hongo *Fusarium oxysporum* en medio AA por cada día de evaluación.

	Eficacia (%)			
	Día 4	Día 6	Día 12	Día 19
Producto 50%	85,84	74,51	80,18	97,17
Producto 25%	91,50	83,01	81,59	87,96
Producto 15%	81,59	67,43	73,10	78,76
Producto 5%	85,84	56,11	59,65	60,35

Anexo 7.- Eficacia del producto sobre *Pseudocercospora fijiensis* en medio PDA por cada día de evaluación.

	Eficacia (%)			
	Día 4	Día 6	Día 12	Día 19
Producto 50%	87,88	84,09	87,88	87,88
Producto 25%	96,21	93,94	96,97	93,94
Producto 15%	100,00	100,00	100,00	96,97
Producto 5%	100,00	100,00	100,00	93,18

Anexo 8.- Eficacia del producto sobre *Pseudocercospora fijiensis* en medio AA por cada día de evaluación.

	Eficacia (%)		
	Día 7	Día 14	Día 21
Producto 50% - BE	37,31	-2,99	-36,57
Producto 50% - BSE	100,00	100,00	100,00

Anexo 9.- Eficacia del producto en baba esterilizada y sin esterilizar, sobre *Moniliophthora roreri* en medio PDA por cada día de evaluación.

	Eficacia (%)		
	Día 7	Día 14	Día 21
Producto 50% - BE	62,96	48,82	52,86
Producto 50% - BSE	100,00	100,00	100,00

Anexo 10.- Eficacia del producto en baba esterilizada y sin esterilizar, sobre el género *Phytophthora sp.* en medio PDA por cada día de evaluación.