



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ  
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGRÍCOLA**

**INFORME DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR PREVIO A  
LA OBTENCIÓN DE TÍTULO DE INGENIERO AGRÍCOLA**

**MECANISMO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**TEMA:**

**SENSIBILIDAD *in vitro* Y PATOGENICIDAD DE AISLADOS DE  
*Lasiodiplodia* spp. PROVENIENTES DEL CULTIVO DE CACAO**

**AUTOR:**

**JOSÉ ANDRÉS SANTANA ÁLVAREZ**

**TUTOR:**

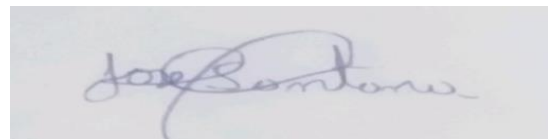
**ING. SERGIO MIGUEL VÉLEZ ZAMBRANO**

**CALCETA, JULIO DEL 2024**

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo José Andrés Santana Álvarez, con cédula de ciudadanía 1350035919, declaro bajo juramento que el Trabajo de Integración Curricular titulado: **SENSIBILIDAD *in vitro* Y PATOGENICIDAD DE AISLADOS DE *Lasiodiplodia* spp. PROVENIENTES DEL CULTIVO DE CACAO** es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

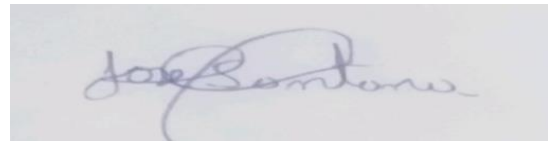
A través de la presente declaración, concedo a favor de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos, conservando a mi favor todos los derechos patrimoniales de autor sobre la obra, en conformidad con el Artículo 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación.



**JOSÉ ANDRÉS SANTANA ÁLVAREZ**  
**1350035919**

## AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

José Andrés Santana Álvarez, con cédula de ciudadanía 1350035919, autorizo a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, la publicación en la biblioteca de la institución del Trabajo de Integración Curricular titulado: **SENSIBILIDAD *in vitro* y PATOGENICIDAD DE AISLADOS DE *Lasiodiplodia* spp. PROVENIENTES DEL CULTIVO DE CACAO**, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y total autoría.



---

**JOSÉ ANDRÉS SANTANA ÁLVAREZ**  
**1350035919**

## **CERTIFICACIÓN DEL TUTOR**

**Sergio Miguel Vélez Zambrano**, certifica haber tutelado el Trabajo de Integración Curricular titulado: **SENSIBILIDAD *in vitro* y PATOGENICIDAD DE AISLADOS DE *Lasiodiplodia* spp. PROVENIENTES DEL CULTIVO DE CACAO** que ha sido desarrollado por **José Andrés Santana Álvarez**, previo a la obtención del título de **Ingeniero Agrícola**, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS DE GRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

---

ING. SERGIO MIGUEL VÉLEZ ZAMBRANO. MG

1310476773

**TUTOR**

## **APROBACIÓN DEL TRIBUNAL**

Los suscritos integrantes del Tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el Trabajo de Integración Curricular titulado: **SENSIBILIDAD *in vitro* y PATOGENICIDAD DE AISLADOS DE *Lasiodiplodia* spp. PROVENIENTES DEL CULTIVO DE CACAO**, que ha sido desarrollado por **José Andrés Santana Álvarez**, previo a la obtención del título de **Ingeniero Agrícola**, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS DE GRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

---

**ING. GONZALO CONSTANTE TUBAY, MG**  
**1304579988**  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

---

**ING. FREDDY MESÍAS GALLO, MG**  
**1202028492**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

---

**ING. LEONARDO LEÓN CASTRO, MG**  
**0918676768**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por mantenerme con salud y vida, por protegerme y guiarme por el camino correcto para llegar a alcanzar mis metas con mucho sacrificio, dedicación, esfuerzo y trabajo.

A mi familia que tanto me han apoyado no solamente en lo económico, sino en lo emocional, principalmente a mis abuelos, padre, tíos y tías que han estado ayudándome en mis estudios y también en mi tesis, que sin ellos no hubiese ni avanzado.

A mis vecinos y amigos que vienen siendo también parte de mi familia ya que con ellos se convive a diario, brindándome el apoyo por salir adelante y lograr mis metas alcanzadas.

A los docentes de esta institución que con su experiencia y conocimiento he logrado convertirme en lo que soy, principalmente a la ingeniera Sofía Velásquez, al ingeniero Sergio Vélez y la ingeniera Saskia Guillén, y a todos los demás docentes que gracias a ellos he podido crecer académicamente y aprender mucho en todos estos semestres.

**JOSÉ ANDRÉS SANTANA ÁLVAREZ**

## **DEDICATORIA**

A Dios que sin él no sería nada, ni estuviera ni hubiera alcanzado todo hasta ahora, dándome salud, guiándome hacia el camino de bien.

A mis abuelos que me ayudado absolutamente en todo, y son mis padres de crianza, apoyándome en lo económico, emocional y haciendo mucho sacrificio para yo salir adelante, son un pilar en mi vida al igual que el resto de mi familia.

A mis amistades y vecinos que me han ayudado a través de mis estudios, colaborando en lo que se pueda, ellos también son un pilar fundamental en mi vida, gracias a sus pequeños aportes también he podido salir adelante en tareas, actividades, etc.

A las personas que ya no están con nosotros, que lastimosamente fallecieron en el transcurso de mi carrera, tanto a familiares que he querido mucho, vecinos y docente.

A mí mismo por haber puesto de mi parte en salir adelante, ponerles empeño a mis estudios, sacrificando muchas cosas como recursos, tiempo, juventud, también por haber superado tantas cosas como problemas mentales como la ansiedad, hipocondría, nervios, etc. Todo con tal de alcanzar mis metas y ser un gran profesional para el bien de la sociedad,

**JOSÉ ANDRÉS SANTANA ÁLVAREZ**

## CONTENIDO GENERAL

PORTADA.....	i
DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN	iii
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	v
AGRADECIMIENTO	vi
DEDICATORIA	vii
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	1
1.2. JUSTIFICACIÓN	3
1.3. OBJETIVOS	5
1.3.1. OBJETIVO GENERAL	5
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
1.4. HIPÓTESIS	5
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	6
2.1. 6	
2.2. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, PATOGÉNICA Y TAXONÓMICA DE 6	
2.2.1. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA	6
DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA	6
CARACTERIZACIÓN PATOGÉNICA	7
CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	7
2.2.2. SENSIBILIDAD 8	
2.2.3. MECANISMOS DE EVALUACIÓN DEL CONTROL DE <i>Lasiodiplodia</i> spp EN CONDICIONES DE VIVERO	8
CONTROL QUÍMICO (FUNGICIDAS)	8
2.3. FUNGICIDAS	8



AZOYSTROBIN+TRIDEMORPH	9
TRIFLOXYSTROBIN+TEBUCONAZOL	9
CLOTALONIL	9
DIFENOCONAZOL	10
SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO	10
2.4. PARÁMETROS DE MEDICIÓN	10
TABLA DE ABBOTT	10
CRECIMIENTO RADIAL	11
PRUEBA DE PATOGENICIDAD	11
SENSIBILIDAD <i>in vitro</i>	11
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO	12
3.1. UBICACIÓN	12
3.2. DURACIÓN	12
3.3. TIPO, ALCANCE Y ENFOQUE DE INVESTIGACIÓN	13
3.4. MÉTODOS Y TÉCNICAS	13
3.4.1. ETAPA 1: ESTABLECIMIENTO DE LA PATOGENICIDAD DE LOS AISLADOS OBTENIDOS EN CACAO	13
3.4.1.1. ENSAYO 1: PATOGENICIDAD	13
FACTOR EN ESTUDIO	14
TRATAMIENTOS	14
UNIDAD EXPERIMENTAL	14
DISEÑO EXPERIMENTAL	14
VARIABLE RESPUESTA	15
3.5. ETAPA 2: DEFININICIÓN DE LA SENSIBILIDAD	15
3.5.1.1. ENSAYO 2: SENSIBILIDAD	15
FACTORES EN ESTUDIO	16
TRATAMIENTOS	17
UNIDAD EXPERIMENTAL	17
DISEÑO EXPERIMENTAL	17
VARIABLE RESPUESTA	18
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20

4.1. PATOGENICIDAD DE LOS AISLADOS DE <i>Lasiodiplodia</i> spp PROVENIENTES DEL CULTIVO DE CACAO.	20
4.1.1. AGRESIVIDAD DE LOS AISLADOS DE <i>Lasiodiplodia</i> spp. PROVENIENTES DEL CULTIVO DE CACAO	21
4.2. DEFINICIÓN DE LA SENSIBILIDAD <i>in vitro</i> A FUNGICIDAS COMERCIALES, DE LOS AISLADOS DE <i>Lasiodiplodia</i> spp.	23
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	27
CONCLUSIONES	27
RECOMENDACIONES	27
BIBLIOGRAFÍA	28
ANEXOS	39

## CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 3.1 Condiciones climatológicas.....	12
Tabla 3.2 Tratamientos de agresividad de <i>Lasiodiplodia</i> provenientes del cultivo de cacao .....	14
Tabla 3.3 Esquema ADEVA de patogenicidad.....	14
Tabla 3.4 Tratamiento de la sensibilidad <i>in vitro</i> .....	17
Tabla 3.5 Esquema ADEVA de sensibilidad <i>in vitro</i> .....	17
Tabla 4.1 Comparación de medias. agresividad de aislados de <i>Lasiodiplodia</i> provenientes del cultivo de cacao.....	22
Tabla 4.2 Cuadro de medias, Sensibilidad <i>in vitro</i> a fungicidas comerciales, de los aislados de <i>Lasiodiplodia</i> spp.....	24

## CONTENIDO DE FÓRMULAS

Fórmula 3.1. Crecimiento radial vertical y horizontal.....	18
Fórmula 3.2 Eficacia del tratamiento.....	19

## RESUMEN

Este estudio se realizó en el laboratorio de Biología Molecular de la Carrera de Medicina Veterinaria y en el vivero de la Carrera de Ingeniería Agrícola del cantón Bolívar, provincia de Manabí, Ecuador. Los objetivos fueron: 1) Establecer la patogenicidad de los aislados de *Lasiodiplodia* provenientes en cultivo de cacao, y 2) definir la sensibilidad *in vitro* a fungicidas comerciales, de los aislados de *Lasiodiplodia* spp. Se utilizó Papa Dextrosa Agar como principal medio de cultivo. Los fungicidas fueron Azoxystrobin+Tridemorph, Difenconazol, Sulfato de Cobre Pentahidratado, Clorotalonil y Pyraclostrobin+Tebuconazol. Se efectuó dos ensayos, la patogenicidad que contó con un diseño completamente al azar, ocho aislados de *Lasiodiplodia* spp (destacando que cada aislado representó un tratamiento, cada aislado tiene una codificación ya planteada anteriormente en otros trabajos de aislamiento), cuatro réplicas, se lo efectuó en plantas sanas de cacao en la que se debió inocular discos miceliales en el tallo. En el segundo ensayo se usaron cinco fungicidas y tres dosis, en dos aislados de *Lasiodiplodia*. Todos los aislados causaron patogenicidad, sin embargo, los aislados 1 y 2 fueron los más agresivos con 2.18 y 2.06 cm de lesión mientras el menos agresivo fue el 8 con 0.51 cm. En los aislados 1 y 2, los fungicidas que se destacaron fueron Difenconazol y Azoxystrobin+ Tridemorph con 93.20% y 96,67 de inhibición respectivamente; la dosis alta de Difenconazol y de Azoxystrobin+Tridemorph fueron los más eficaces con 67.28% y 62.83% en el control de crecimiento del hongo en su orden. Finalmente, el tratamiento que mejor control ejerció fue Azoxystrobin+Tridemorph en dosis alta.

## ABSTRACT

This study was carried out in the Molecular Biology laboratory of the Veterinary Medicine Career and in the nursery of the Agricultural Engineering Career of the Bolívar canton, province of Manabí, Ecuador. The objectives were: 1) Establish the pathogenicity of *Lasiodiplodia* isolates from cocoa crops, and 2) define the in vitro sensitivity to commercial fungicides of *Lasiodiplodia* spp isolates. Potato Dextrose Agar was used as the main culture medium. The fungicides were Azoxystrobin+Tridemorph, Difenconazole, Copper Sulfate Pentahydrate, Chlorothalonil and Pyraclostrobin+Tebuconazole. Two tests were carried out, the pathogenicity that had a completely randomized design, eight isolates of *Lasiodiplodia* spp (highlighting that each isolate represented a treatment, each isolate has a coding already proposed previously in other isolation works), four replicates, was carried out on healthy cocoa plants in which mycelial disks had to be inoculated in the stem. In the second trial, five fungicides and three doses were used on two *Lasiodiplodia* isolates. All isolates caused pathogenicity, however, isolates 1 and 2 were the most aggressive with 2.18 and 2.06 cm of lesion while the least aggressive was isolate 8 with 0.51 cm. In isolates 1 and 2, the fungicides that stood out were Difenconazole and Azoxystrobin+ Tridemorph with 93.20% and 96.67% inhibition respectively; the high dose of Difenconazole and Azoxystrobin+Tridemorph were the most effective with 67.28% and 62.83% in controlling the growth of the fungus in their order. Finally, the treatment that exerted the best control was Azoxystrobin+Tridemorph at a high dose.

## KEY WORDS

*Lasiodiplody*, *In vitro* sensitivity, Pathogenicit

# CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

## 1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Ecuador es uno de los países con mayor producción de cacao (*Theobroma cacao* L.). En el 2021, se reportaron 543, 547 t/ha de área cosechada y una producción nacional de 302, 093. 9 t/ha de granos de cacao en el país (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAOSTAT], 2023).

El cultivo de cacao puede ver afectado su rendimiento productivo por diversos factores, entre los que se destacan, los hongos fitopatógenos, que comúnmente se localizan en regiones tropicales y subtropicales a nivel global, siendo favorecidos por las épocas lluviosas que incitan a la gran producción de esporas y diseminación del fitopatógeno. Entre los principales microorganismos fitopatógenos que afectan el cultivo se encuentran (*Moniliophthora roreri*, *M. perniciosa*, *Ceratocystis*, *Collectotrichum*, *Phytophthora*, *Lasiodiplodia* spp) (Moreira et al., 2021).

El hongo *Lasiodiplodia* spp. produce síntomas como muerte regresiva y presencia de canchales en los frutales, que reducen el periodo de vida y afectan la producción óptima de los cultivos. Este hongo que puede presentarse como: saprófito, endófito y patógeno latente, que se manifiesta cuando la planta está bajo condiciones de estrés o debilitada y genera muerte regresiva en las ramas, canchales y pudriciones en el fruto o pedúnculo del fruto (Jiménez, 2023).

Este Patógeno afecta frutales tropicales como mango, aguacate y cacao (Espinoza et al., 2009; Philips et al., 2013; Slippers y Wingfield, 2007; Úrbez-Torres et al., 2006; Valencia et al., 2019, citado por (Ravello, 2019). También afecta a otros frutales como: la guanábana, limón, naranja, toronja, mandarina, coco, papaya, zapote, mamey, etc. (Escobar, 2021).

Si bien es cierto que para el control del hongo *Lasiodiplodia* spp. en la provincia de Manabí, se han utilizado fungicidas de forma rutinaria, se desconoce la eficacia de cada uno de estos productos químicos sobre el fitopatógeno, lo cual posiblemente podría relacionarse con una baja efectividad de los fungicidas en el control de la enfermedad o quizás podría vincularse con posible problemas de resistencia del hongo a los fungicidas; otro factor que debe ser considerado importante al momento de diseñar una estrategia de manejo es el conocimiento de la virulencia de los aislados de *Lasiodiplodia*, ya que cada uno de estos aislados puede comportarse de forma diferente al momento de provocar enfermedad sobre los cultivos o en su defecto puede infectar otras plantas de otros cultivos frutales (Tenegusñay, 2022).

En Ecuador, los factores predominantes para que el cacao sea rentable, son la alta productividad y la calidad, sin embargo, las enfermedades minimizan la producción y calidad. En este país, la muerte regresiva y otras enfermedades son causadas por el hongo *Lasiodiplodia*, es uno de los principales patógenos que ataca a este cultivo (Cedeño, 2014). Es importante que los productores cacaoteros sepan la capacidad de daño y la resistencia a fungicidas que llega a tener este patógeno, por lo tanto, se plantea la siguiente pregunta ¿Cuál es la patogenicidad y sensibilidad *in vitro* de *Lasiodiplodia*?

## 1.2. JUSTIFICACIÓN

Las prácticas culturales son las técnicas más empleadas para contrarrestar las enfermedades que atacan al cultivo de cacao, se usa también las técnicas de control a través de fungicidas, sin embargo no son suficientes debido al elevado costo y desconocimiento del productor, provocando erróneas y excesivas aplicaciones de dicho producto, por ende, es necesario elegir el fungicida óptimo para controlar las enfermedades causadas por este hongo, y que el producto no altere las condiciones ambientales del ecosistema.

Con el fin de conocer el fungicida ideal que controle el desarrollo de los microorganismos vinculados a enfermedades de cacao se lleva a cabo la sensibilidad *in vitro*, la patogenicidad en plantas sanas de varios frutales, con el fin de verificar la agresividad del patógeno para ratificar el crecimiento de la cepa de distintos medios de cultivos nutricionales (Lectóng, 2020).

La prueba de patogenicidad es indispensable para la evaluación del daño. La patogenicidad tiene como importancia saber la capacidad de cierto microorganismo para causar enfermedades hacia el huésped. Como en el caso del *Lasiodiplodia* tiene de importancia saber su capacidad para causar enfermedad al cultivo de cacao. Comprender cómo este patógeno causa enfermedades que ayude a prevenir y controlar mejor los daños en el cultivo de cacao (Netto et al., 2014).

El cacao es afectado por varias enfermedades, y uno de los controles más efectivos son los fungicidas, sin embargo para saber cuál es el más eficaz, lo ideal es la sensibilidad *in vitro*, su importancia se la considera en su determinación en la sensibilidad de ciertos patógenos con ayuda de ciertos tratamientos, como en el caso de los fungicidas comerciales, que tenga control con su respectiva dosis hacia el hongo *Lasiodiplodia*, con el propósito de saber que fungicida es el más efectivo para el control de este patógeno en cultivos de cacao y evitar daños severos causados por este dicho hongo (Lovato et al., 2017).

La investigación se vincula con el objetivo 12 “producción y consumo responsable” de la agenda 2030. En el cual, pretende garantizar modalidades de consumo y producción sostenible, por lo que se requiere control de enfermedades para una mejor productividad y así reducir las pérdidas económicas de los productores (Comisión Económica para América Latina y el Caribe [CEPAL], 2018)



### **1.3. OBJETIVOS**

#### **1.3.1. OBJETIVO GENERAL**

Determinar la patogenicidad y sensibilidad *in vitro* de aislados de *Lasiodiplodia* provenientes del cultivo de cacao.

#### **1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Establecer la patogenicidad de los aislados de *Lasiodiplodia* provenientes del cultivo de cacao.

Definir la sensibilidad *in vitro* a fungicidas comerciales, de los aislados de *Lasiodiplodia* spp.

### **1.4. HIPÓTESIS**

Al menos un aislado de *Lasiodiplodia* obtenido de cacao, presenta patogenicidad y al menos uno de los fungicidas comerciales ejerce control *in vitro* sobre el hongo.

## **CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. *Lasiodiplodia* spp EN CULTIVOS DE INTERÉS ECONÓMICO**

El hongo *Lasiodiplodia* spp., perteneciente de la familia Botryosphaeriaceae, a menudo se lo considera un hongo fitopatógeno que ataca a más de 500 especies en los trópicos y subtrópicos como al cacao, mango, aguacate, guanábana, cítricos, etc. Esta enfermedad tiene como importancia, el incremento de la dicha especie en varios lugares del mundo, probablemente por el cambio climático a nivel global. Los factores ambientales como la temperatura y se tiene en cuenta que la sequía interviene en las interacciones entre el hongo y las plantas hospedantes (Shao et al., 2019).

Uno de los cultivos de importancia económica es el cacao, este cultivo también es afectado por el hongo *Lasiodiplodia*, provocando síntomas como: muerte descendente de ramas y pudrición de frutos, canchales, entre otros síntomas, causándole pérdidas severas después de la cosecha y sobre todo lo más importante durante el almacenamiento prolongado, disminuyendo la calidad del fruto y limitando la comercialización de la misma (Picos et al., 2015).

### **2.2. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, PATOGENICA Y TAXONÓMICA DE *Lasiodiplodia* spp**

#### **2.2.1. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA**

##### **DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA**

Las hifas son ramificadas, septadas y de color marrón oscuro cuando madura, y va formando estructura de fructificación llamada picnidios, esto son piriformes con paredes de color marrón oscuro y se muestra un ostiolo localizado en la parte apical, por donde son expulsados los conidios, aquellas que se forman sobre células conidiogénicas en conidióforos cortos, ubicados en las paredes internas de los picnidios. Los conidios tienen una tonalidad clara, hialinas y aseptadas cuando están en etapa de maduración, en cambio cuando están en la etapa de maduración tienen una tonalidad marrón oscuro, presentan estrías longitudinales en la superficie (Santos, 2019).

## CARACTERIZACIÓN PATOGENICA

El hongo *Lasiodiplodia* spp, se caracteriza por su gran capacidad para causar daños y enfermedades en plantas frutales como al cacao (*Theobroma cacao*). Sus daños son en tallos, generando goma y pudriciones de frutos en postcosecha, suele provocar necrosis, chancros, etc. Este patógeno puede llevar a la muerte a la planta, provocando pérdidas de producción económicas debido a su grado de patogenicidad (Flores et al., 2021).

La patogenicidad de este hongo fitopatógeno, ha tenido distintos grados de virulencia y lesiones vasculares. Algunas especies han sido consideradas patógenas, endófitas o simplemente saprófitas. Por lo tanto, se los ha considerado contradictorios debido a sus grados de virulencia y daños causados por distintas especies de este hongo *Lasiodiplodia* (González y Tello, 2011).

## CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Pertenecientes de Ascomycota, clase Dothideomycetes, orden Botryosphaerales, familia Botryosphaerales, familia Botryosphaeraceae. Algunas especies diferentes tienen distribución cosmopolita, mitospóricos con una etapa asexual y otra etapa sexual. Pueden diferenciarse dos grupos: i) especies con anamorfo tipo *Diplodia* y especies con anamorfo tipo *Fusicoccum*. Después, se incorpora el anamorfo tipo *Dothiorella* y el género *Neofusicoccum* (Phillips et al., 2005).

La clasificación taxonómica de *Lasiodiplodia* spp. es la siguiente:

Taxonomía	
<b>Reino:</b>	Fungi
<b>División</b>	Ascomyceto
<b>Clase</b>	Botryosphaerales
<b>Orden</b>	Botryosphaeriaceae
<b>Familia</b>	Botryosphaeraceae
<b>Género</b>	<i>Lasiodiplodia</i>

**Fuente:** (Mohali et al., 2005).

### **2.2.2. SENSIBILIDAD *in vitro* DE *Lasiodiplodia* spp FRENTE A FUNGICIDAS**

Según Rusin et al. (2020), mencionan que el tebuconazol y el difeconazol son uno de los fungicidas más efectivos para el control del hongo *Lasiodiplodia* spp, comparando con otros fungicidas mediante la prueba de la sensibilidad *in vitro*, teniendo una mejor inhibición del crecimiento micelial en cajas Petri. Esto garantiza la evidencia de haber control químico con fungicidas contra el hongo *L. spp*.

### **2.2.3. MECANISMOS DE EVALUACIÓN DEL CONTROL DE *Lasiodiplodia* spp EN CONDICIONES DE VIVERO**

#### **CONTROL QUÍMICO (FUNGICIDAS)**

El control químico es uno de los más usados den parte de los agricultores, como en el caso de los fungicidas cuyo propósito es controlar, eliminar o prevenir las enfermedades causadas por hongos fitopatógenos, estos funcionan mediante la interrupción del ciclo vital de los hongos provocan enfermedades en las plantas. Comúnmente, se aplican mediante la pulverización, y pueden intervenir de distintas formas dependiendo el tipo de ingrediente activo. Algunos mecanismos de acción funcionan de la siguiente manera: inhibición de la síntesis de la pared celular, inhibición de la respiración, interferencia con la división celular e interferencia con la producción de esporas (Blog Agricultura, 2023).

### **2.3. FUNGICIDAS**

Los fungicidas son aquellos pesticidas que tiene la capacidad de destruir hongos en cultivos agrícolas, sin embargo, no solamente se refiere a ese término, sino más bien, son todos aquellos que pueden proporcionar resistencia a la planta huésped o que transforman el medio ambiente en un lugar inadecuado para el desarrollo y crecimiento del organismo infeccioso. En este caso, los fungicidas pueden intervenir tal como se aplican o pueden modificar o ser modificados por 150 tejidos de la planta para producir su efecto (Portilla y Melgarejo, 2011).

### **AZOYSTROBIN+TRIDEMORPH**

Inhibe la respiración mitocondrial por bloqueo de la transferencia de electrones entre el citocromo b y el citocromo c1 al oxidar del sitio ubiquinol. Controla la cepa de patógenos resistentes a los inhibidores 14-demethylase, fenilamidas, dicarboxamidas y benzimidazoles. Es un inhibidor de la biosíntesis del ergosterol, por inhibición de la reducción de esterol de la reducción de esterol e isomerización (Interoc, s.f.).

### **TRIFLOXYSTROBIN+TEBUCONAZOL**

Es utilizado en forma preventiva y/o curativa. Trifloxystrobin tiene una actividad mesotérmica, caracterizada por su alta afinidad con la superficie de la planta. Una distribución por movimiento de vapor superficial y reubicación en la superficie vegetal, y una penetración del tejido con movimiento translaminar. El tryfloxystrobin es particularmente activo sobre la germinación de esporas y el crecimiento del micelio en la superficie de la planta. Inhibe también el desarrollo de patógenos, como la formación de haustorias, en la epidermis del tejido vegetal. El Tebuconazol es incorporado a la planta y distribuido de manera ascendente. Actúa sobre los hongos patógenos durante la penetración y formación de haustorias. Detiene el crecimiento del hongo, interfiriendo en la biosíntesis de sus membranas celulares. Tiene acción preventiva y fuertemente curativa (Bayer, s.f.).

### **CLOROTALONIL**

Es un fungicida cuyo ingrediente activo pertenece al grupo químico de los cloronitrilos, este ingrediente activo actúa principalmente como protector de la planta contra el proceso de infección del hongo. Es un ingrediente activo foliar de contacto y con acción protectora (Tridente, s.f.).

### **DIFENOCONAZOL**

Es un fungicida sistémico que es absorbido rápidamente por la planta y traslocado acropétalmente. Actúa sobre el crecimiento subcuticular de las hifas en los tejidos afectados. El desarrollo de las conidias, así como su virulencia y

habilidad también son claramente afectadas. Detiene el desarrollo de los hongos interfiriendo en la biosíntesis de los esteroides de las membranas celulares del patógeno más específicamente inhibiendo la desmetilación. El modo de acción es de características curativas y erradicantes (Heliti, s.f.).

## **SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO**

Es un fungicida bactericida sistémico que acumula el ion Cu-II hasta una concentración suficiente para acabar con las esporas de *Mancha Curvularia* y *Añublo del arroz*. El cobre posee actividad fungistática y bacteriostática, inhibiendo la actividad vital de hongos y bacterias. En general, el cobre está retenido en la superficie del suelo y por tanto es prácticamente inmóvil. Tiene una elevada afinidad por coloides del suelo y forma complejos estables con compuestos orgánicos. Las plantas lo utilizan como nutriente (Adama, 2023).

## **2.4. PARÁMETROS DE MEDICIÓN**

### **TABLA DE ABBOTT**

Es una herramienta usada en microbiología para poder interpretar los resultados de pruebas de sensibilidad *in vitro*, que se realizan para determinar la eficacia de los antimicrobianos contra organismos específicos como en el caso de hongos fitopatógenos. La sensibilidad *in vitro* se refiere a la capacidad de un agente antimicrobiano para inhibir o matar un microorganismo en condiciones de laboratorio (Martínez, 2019).

### **CRECIMIENTO RADIAL**

Es cuando se puede observar en la expansión de estructuras como colonias de microorganismos o el desarrollo de tejidos en un organismo multicelular, En el caso de colonias fúngicas, por ejemplo, el crecimiento radial implica que el hongo se multiplique y se dispersen en todas las direcciones desde el punto inicial de inoculación. Como en el caso del cultivo de *Lasiodiplodia* en caja de Petri, y crecería en dos direcciones (vertical y horizontal) (Tuesta, 2023).

### **PRUEBA DE PATOGENICIDAD**

La prueba de patogenicidad consiste en inocular un microorganismo, para determinar sus daños, se inocula el hongo, con varios procesos y herramientas

como el uso de un bisturí un sacabocado o sacacorchos de 5 mm (ambos estériles), alcohol, algodón, plástico Parafilm, plantas de estudios (cacao), y eso a partir de un cultivo PDA de al menos 7 días. Se deja un rasgo en la corteza de la planta y se la retira con el bisturí esterilizado, para luego tomar un palillo estéril y tomar una pequeña muestra del hongo y se cubre con algodón cubierto y se le envuelve con plástico Parafilm tipo injerto, y se le riega cada 2 a 3 días para que el hongo haga su proceso, y se va observando la cantidad de daño que va produciendo el patógeno (Rahim et al., 2022).

### **SENSIBILIDAD *in vitro***

Consiste en determinar la sensibilidad y/o la resistencia de cierto microorganismo, como en el caso de un hongo fitopatógeno ya replicado y en un medio de cultivo en caja Petri, probar con distintos fungicidas para su respectiva determinación de sensibilidad en laboratorio y así tener en cuenta la dosis y el fungicida más efectivo que haya causado sensibilidad al hongo de estudio y se lo mide con un calibrador vernier (Sartorato, 2006).

## CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

### 3.1. UBICACIÓN

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Biología Molecular de la carrera de Medicina Veterinaria de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, localizada en el sector El Limón, cantón Bolívar, Ecuador, situado geográficamente entre las coordenadas 0° 49' 23'' Latitud Sur; 80° 11' 01'' Longitud Oeste y una altitud de 15 msnm<sup>1</sup> (Estación Meteorológica de la [ESPAM-MFL], 2010).

**Tabla 3.1** Condiciones climatológicas

<b>Calceta</b>	
<b>Humedad relativa (%)</b>	82.4
<b>Temperatura máxima (°C)</b>	30.8
<b>Temperatura mínima (°C)</b>	21.2
<b>Temperatura media (°C)</b>	26.1
<b>Evaporación (mm)</b>	1176.4
<b>Precipitación (mm)</b>	960.8
<b>Recorrido del viento (km/hor)</b>	547.7
<b>Heliofanía (Horas Sol)</b>	1024.3

*Fuente:* (Estación Meteorológica de la [ESPAM-MFL], 2010).

### 3.2. DURACIÓN

La investigación tuvo una duración de 8 meses, desde agosto del 2023 hasta marzo del 2024.



### **3.3. TIPO, ALCANCE Y ENFOQUE DE INVESTIGACIÓN**

La **primera etapa** fue descriptiva y se contó con un ensayo patogenicidad en que se inoculó el disco micelial de los aislados del hongo en el tallo de la planta para determinar la agresividad de cada uno de los aislados, midiendo las lesiones en cada planta.

La **segunda etapa** fue experimental, se evaluó la sensibilidad de los aislados en caja Petri con fungicida (5 fungicidas y 3 dosis) y se le midió el crecimiento micelial con un calibrador vernier.

### **3.4. MÉTODOS Y TÉCNICAS**

El estudio se constituyó de dos etapas: La primera fue el establecimiento de la patogenicidad de los aislados y la segunda fue en el decreto de la sensibilidad *in vitro* a fungicidas comerciales, de los aislados de *Lasiodiplodia* spp.

#### **3.4.1. ETAPA 1: ESTABLECIMIENTO DE LA PATOGENICIDAD DE LOS AISLADOS OBTENIDOS EN CACAO**

##### **3.4.1.1. ENSAYO 1: PATOGENICIDAD**

Se utilizaron plantas sanas de cacao con 8 aislados obtenidos, cada 2 plantas fueron una unidad experimental, distribuidas en un diseño completamente al azar con 4 réplicas, fueron 8 plantas por cada aislado y 8 plantas para el testigo (se procede a inocular el disco, pero sin hongo), dando un total de 72 plantas.

La patogenicidad se basó en evaluaciones cualitativas mediante la observación para presenciar los posibles síntomas y coloraciones externas causados por este microorganismo en el tallo, mientras que, la agresividad en este mismo ensayo, fue sobre las lesiones provocadas por este hongo en la parte interna, con el respectivo cuidado de no confundir las lesiones con la oxidación localizada cerca de esa parte.

La inoculación del disco micelial consiste en usar el sacabocado para extraer una pequeña parte circular de la corteza del tallo de la planta, con el bisturí se retiró la corteza, luego se toma un disco del micelio con palillo estéril ubicándolo en la parte del tallo en donde se realizó el retiro de la corteza, con un pedazo de algodón mojado en agua estéril para mantener la humedad del disco, se la ubica

a lado contrario de la ubicación del disco micelial, luego se lo envuelve con una tira de plástico de parafina, a las plantas Testigo se le realizó el mismo procedimiento con la excepción de no inocular el disco micelial.

La evaluación fue descriptiva y de manera observatorio se fue analizando los síntomas causados por los aislados de *Lasiodiplodia* y se lo compararon con plantas sanas de testigo (sin inoculación) y las lesiones se las midió con un calibrador Vernier al final del ensayo, pero antes de medir, se procedió a retirar la corteza con la ayuda de un bisturí y con el mismo hacer corte superficial de modo vertical a la fibra del tallo para visualizar la lesión y tomar la respectiva medida a cada planta inoculada.

## FACTOR EN ESTUDIO

Aislados de *Lasiodiplodia* spp.

## TRATAMIENTOS

**Tabla 3.2** Tratamientos de agresividad de *Lasiodiplodia* provenientes del cultivo de cacao.

Número de tratamientos	Aislado de ( <i>Lasiodiplodia</i> spp)	Códigos	Observación
T1	Aislado 1	T1A1	Cada aislado es un tratamiento, los códigos planteados fueron escritos así para la identificar la diferencia de cada uno de ellos.
T2	Aislado 2	T2A2	
T3	Aislado 3	T3A3	
T4	Aislado 4	T4A4	
T5	Aislado 5	T5A5	
T6	Aislado 6	T6A6	
T7	Aislado 7	T7A7	
T8	Aislado 8	T8A8	

## UNIDAD EXPERIMENTAL

Cada unidad experimental fue constituida por plantas sanas de cacao, en el que se le inoculó un disco del hongo aislado.

## DISEÑO EXPERIMENTAL

Se empleó un diseño completamente al azar (DCA) y cuatro réplicas.

**Tabla 3.3.** Esquema ADEVA de patogenicidad.

FV		GL
Total	rt-1	31
Tratamientos	t-1	7
Error	t(r-1)	24

## VARIABLE RESPUESTA

La variable respuesta fue la medición de la lesión en las plantas sanas de cacao en las que fueron inoculadas. Se basó en el método propuesto por Rahim et al. (2022), consistiendo en evaluar la agresividad con un calibrador Vernier.

### 3.5. ETAPA 2: DEFINICIÓN DE LA SENSIBILIDAD *IN VITRO* A FUNGICIDAS COMERCIALES, DE LOS AISLADOS DE *Lasiodiplodia* spp.

#### 3.5.1.1. ENSAYO 2: SENSIBILIDAD *in vitro*

Se utilizaron 2 aislados con 5 fungicidas comerciales y 3 dosis. Distribuidos en un diseño completamente al azar con 4 réplicas (cada caja Petri fue una repetición). Las dosis utilizadas fueron las recomendadas en la etiqueta del producto, una de ellas fue considerada dosis media; a partir de allí se establecieron las dosis baja y alta en  $\mu\text{L}$ . Se midió el crecimiento del hongo con un calibrador Vernier para identificar la presencia de sensibilidad a los ingredientes activos, y se lo fue comparado con un testigo (aislado del hongo sin fungicida). Método propuesto por (Sartorato, 2006).

Este método inició con la preparación de medio de cultivo para hongos y luego se sometió al autoclave para su respectiva esterilización, una vez estéril, se dejó enfriar un poco hasta que la temperatura caliente pueda ser tolerada en la mano para tomar el recipiente de medio de cultivo, luego se trasladó todos los materiales a la cabina de flujo, incluyendo el medio de cultivo y los fungicidas, con una micropipeta y una punta plástica, se le programó las dosis calculadas y se procedió a tomar el fungicida con la cantidad exacta (por cada dosis de fungicida, se retira la punta de la micropipeta, y se tomó otra para cada dosis y tratamiento) luego se agitó el recipiente para que se mezcle el fungicida con el medio de cultivo, de inmediateamente, se procedió a verter esa mezcla en cada

caja de Petri, lo cual cada recipiente de 100 ml, bastó para .las 4 réplicas de cada tratamiento con su dosis.

El siguiente paso, fue hacer discos de medio de cultivo con crecimiento micelial *Lasiodiplodia* con la ayuda de un sorbete esterilizado mientras se enfriaba el medio de cultivo, luego se colocó en el centro de la caja Petri en el que contiene la mezcla de medio de cultivo con dosis de fungicida, con un palillo estéril se procedió a tomar cada disco (uno por caja Petri) y se repite el proceso para los demás tratamientos, ahí se envolvió la tapa de la caja Petri alrededor de la misma y se rotuló el código del tratamiento con un esfero, encima de cinta adhesiva de papel, esa cinta se la puso encima de la caja y así fue estos procedimientos para todos los tratamientos en todos los aislados.

## FACTORES EN ESTUDIO

Fungicidas (A)

Dosis (B)

FUNGICIDAS (A)	DOSIS (B)
A1. CLOROTALONIL	B1. BAJA
A1. CLOROTALONIL	B2. MEDIA
A1. CLOROTALONIL	B3. ALTA
A2. SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO	B1. BAJA
A2. SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO	B2. MEDIA
A2. SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO	B3. ALTA
A3. AZOXYSTROBIN+TRIDAMORPH	B1. BAJA
A3. AZOXYSTROBIN+TRIDAMORPH	B2. MEDIA
A3. AZOXYSTROBIN+TRIDAMORPH	B3. ALTA
A4, TRIFLOXYSTROBIN+TEBUCONAZOL	B1. BAJA
A4. TRIFLOXYSTROBIN+TEBUCONAZOL	B2. MEDIA
A4. TRIFLOXYSTROBIN+TEBUCONAZOL	B3. ALTA
A5. DIFENOCONAZOL	B1. BAJA
A5. DIFENOCONAZOL	B2. MEDIA
A5. DIFENOCONAZOL	B3. ALTA

## TRATAMIENTOS

**Tabla 3.4.** Tratamiento de la sensibilidad *in vitro*

N°	CÓDIGO	DESCRIPCIÓN	
		Fungicida	Dosis $\mu$ l
1	A1B1	CLOROTALONIL	250
2	A1B2	CLOROTALONIL	500
3	A1B3	CLOROTALONIL	750
4	A2B4	AZOXYSTROBIN+TRIDEMORPH	125
5	A2B5	AZOXYSTROBIN+TRIDEMORPH	250
6	A2B6	AZOXYSTROBIN+TRIDEMORPH	375
7	A3B7	TRIFLOXYSTROBIN+TEBUCONAZOL	125
8	A3B8	TRIFLOXYSTROBIN+TEBUCONAZOL	250
9	A3B9	TRIFLOXYSTROBIN+TEBUCONAZOL	375
10	A4B10	DIFENOCONAZOL	125
11	A4B11	DIFENOCONAZOL	250
12	A4B12	DIFENOCONAZOL	375
13	A6B13	SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO	150
14	A6B14	SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO	300
15	A6B15	SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO	450

## UNIDAD EXPERIMENTAL

Cada unidad experimental estuvo constituida de un disco de 5 mm de diámetro de cada aislado de *Lasiodiplodia* spp en una caja Petri de 90 mm de diámetro, que contenía 20 ml de medio PDA y una dosis de fungicida.

## DISEÑO EXPERIMENTAL

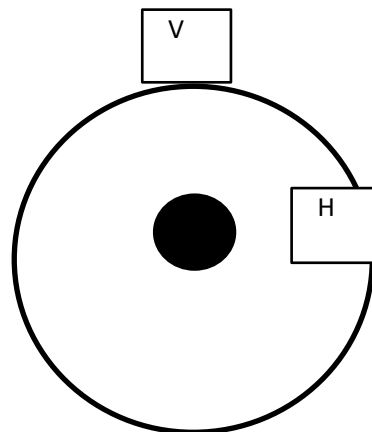
Se empleó un Diseño Completamente al Azar (DCA) en arreglo factorial AxB con cuatro réplicas. Se trabajó con 2 aislados que mostraron crecimientos agresivos, que se enfrentaron a 5 fungicidas y 3 dosis diferentes.

**Tabla 3.5.** Esquema ADEVA de sensibilidad *in vitro*.

FV		GL
Total	rt-1	59
Tratamientos	t-1	14
Error	t(r-1)	45
Fungicidas (A)	(A-1)	4
Dosis (B)	(B-1)	2

## VARIABLE RESPUESTA

Fue la inhibición del crecimiento micelial en fungicidas comerciales con tres distintas dosis por cada fungicida, en lo cual, se evaluó con un calibrador cada 24 horas y al final de la última evaluación se sacó promedio del crecimiento radial que se midió a diario, incluyendo el porcentaje de inhibición. Para la evaluación, cada placa fue marcada en cuatro puntos tanto horizontal como vertical (V y H) en la parte inferior de la caja de Petri, con un marcador con el fin de trazar los radios de la caja Petri.



**Figura 3.1:** Puntos horizontal y vertical en la base de la caja Petri.

Se evaluó con un calibrador vernier dos puntos (A y B) para así obtener datos del crecimiento micelial del hongo y se lo midió diariamente. El crecimiento radial total se calculó mediante la siguiente fórmula usada por (Tuesta, 2023).

**Fórmula 3.1.** Crecimiento radial vertical y horizontal.

$$\text{Crecimiento radial total} = \frac{(A+B)}{2}$$

Con la ayuda de un calibrador vernier, se evaluó a diario, el diámetro del crecimiento micelial del testigo (Dt) con el calibre del crecimiento micelial (Dx), los datos fueron expresados en centímetros (cm) y los resultados para cada

tratamiento se lo consiguió con la fórmula de Abbott en la cual consiste en la prueba en la sensibilidad (Abbott, 1925).

**Fórmula 3.2.** Eficacia del tratamiento

$$Et = \frac{Dt - Dx}{Dt} \times 100$$

Et= Eficacia del tratamiento.

Dt= Diámetro del testigo

Dx= Diámetro del tratamiento

## CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. PATOGENICIDAD DE LOS AISLADOS DE *Lasiodiplodia* spp PROVENIENTES DEL CULTIVO DE CACAO.

La lesión inicia a partir de la entrada de *Lasiodiplodia* spp. a los hospederos en heridas provocadas por herramientas de trabajo, insectos o causas naturales (Ploetz, 2003). Se ha evidenciado que durante los periodos lluviosos hay mayor producción de esporas las cuales se diseminan por la precipitación y el viento. El hongo invade el sistema vascular y avanza por delante de los síntomas visibles (Shahbaz et al., 2009). El hongo sobrevive sobre tejidos muertos de la planta o suelo. La agresividad de *L. spp* está vinculada por la temperatura mayor de 30°C, al estrés hídrico y bajos niveles de nutrición de la planta (Pegg et al., 2006). La actividad celulítica del hongo se basa utilizando almidón y otros sacáridos presentes en el sustrato inicial de la madera antes de la degradación de celulosa y hemicelulosa, aunque no degrada la lignina (Umezurike, 1979).

*Lasiodiplodia* spp produce una variedad de enzimas que le permiten degradar los componentes estructurales de la pared vegetal, como celulasas, hemicelulasas y pectinasas. Estas enzimas rompen los polímeros que dan rigidez y resistencia a los tejidos de la planta, facilitando la penetración del hongo (Kubicek et al., 2014).

Liberan compuestos químicos llamados fitotoxinas como los metabolitos melleínas teniendo el mismo efecto, también hay otras toxinas conocidas como *Lasiodiplodia* A y B, inhiben procesos fisiológicos fundamental de la planta, como la fotosíntesis y el transporte de nutrientes (Reveglia et al., 2019). Puede obstruir los haces vasculares de la planta, impidiendo el transporte adecuado de agua y nutrientes, causando debilitamiento y contribuye al desarrollo en lesiones (Zakaria, 2023). Otro método es el físico, los apresorios e hifas, le permiten penetrar activamente en la epidérmicas y el parénquima de la planta. Una vez dentro, el hongo crece y se expande, causando daños (Xing, 2023).



Todos los aislados de *Lasiodiplodia* spp, inoculados artificialmente, mostraron patogenicidad en plantas sanas de cacao del clon CCN-51; presentando en algunas plántulas síntomas iniciales de necrosis externa en los tallos, desde el punto de inoculación, a partir del día 7; sin embargo en otros aislados tal manifestación sintomática fue evidenciada en semanas posteriores, siendo observado principalmente a los 30 días posteriores a la inoculación, esto concuerda con Pérez et al. 2010), que, en inoculaciones realizadas, con hongos de la familia Botryosphaeriaceae en plantas de eucalipto, observaron que los aislados obtenidos provocan lesiones en el tallo de las plantas a 7 días posteriores a la inoculación. Asemejándose también a Moreira, (2021) presenciando patogenicidad a los 7 días posteriormente a la inoculación en plantas sanas de mango, causando lesiones en el tallo, probablemente por tener con factores controlados ubicando las plantas inoculadas en cámara térmica.

Según Rodríguez et al. 2020) los aislados de *Lasiodiplodia* spp presentaron patogenicidad en plantas de arándanos a los 14 días después de la inoculación, provocando lesiones en los tallos, concuerda con este trabajo de investigación. De la misma forma, se concuerda con Rahim et al. (2022), que determinaron que los aislados de *Lasiodiplodia* spp inoculados en plantas sanas de cacao presentaron lesiones en el tallo entre la primera y tercera semana después de la inoculación, también hay similitud con Huamán, (2023), ya que mostró que los aislados de *Lasiodiplodia* spp fueron patogénicos al formar lesiones de coloraciones marrones en plantas de vid.

#### **4.1.1. AGRESIVIDAD DE LOS AISLADOS DE *Lasiodiplodia* spp. PROVENIENTES DEL CULTIVO DE CACAO**

La agresividad del patógeno en plantas de cacao, reportaron diferencias estadísticamente significativas, lo cual manifiesta que varía de acuerdo a los aislados evaluados. El aislado 1 y 2 causaron lesiones más prominentes de 2.18 y 2.06 cm respectivamente, diferenciándose con los otros como el 7 y 8 que representaron ser pocos agresivos con 0.56 y 0.51 cm.

**Tabla 4.1.** Comparación de medias. Agresividad de aislados de *Lasiodiplodia* provenientes del cultivo de cacao.

Tratamiento	Aislados	Código	Agresividad cm	p-valor
T1	Aislado 1	T1A1	2.18 <sup>A</sup>	0.0001
T2	Aislado 2	T2A2	2.06 <sup>A</sup>	
T3	Aislado 3	T3A3	1.46 <sup>AB</sup>	
T4	Aislado 4	T4A4	0.78 <sup>BC</sup>	
T5	Aislado 5	T5A5	0.70 <sup>BC</sup>	
T6	Aislado 6	T6A6	0.67 <sup>BC</sup>	
T7	Aislado 7	T7A7	0.56 <sup>BC</sup>	
T8	Aislado 8	T8A8	0.51 <sup>BC</sup>	
Testigo			0 <sup>C</sup>	
CV%			65.54%	

Los aislados de *Lasiodiplodia* spp demostraron tener agresividad en el tallo de las plantas de cacao inoculadas por este fitopatógeno, el aislado 1 con 2.18 cm demostró ser el más agresivo, lo que mantiene cierta relación con los resultados de agresividad alcanzados por Díaz et al. (2021), donde el aislado de *Lasiodiplodia* spp más agresivo fue el NA-32 Mz provocando 15.40 cm de lesión en plantas de manzanos, de la misma forma, existe una leve concordancia con Ravello et al. (2019), que evidenciaron, la agresividad del aislado *Lasiodiplodia* spp Bot-2017-LT12 con 15.5 cm de lesión en tallos de manzanos; posiblemente en estas investigaciones el tamaño de la lesión en los tallos fue mayor porque el tiempo de evaluación posterior a la inoculación artificial fue de más días comparado con esta investigación.

Los aislados 1 y 2 demostraron mayor agresividad con 2.18 y 2.06 cm, por lo tanto, hay un aproximado con los resultados de Asmán et al. (s.f.), evidenciaron que la agresividad de *Lasiodiplodia theobromae* y *L. pseudotheobromae* fue de 5.50 y 5.30 cm en plantas de cacao.

Según Rodríguez et al. (2021), revelaron la agresividad de los aislados de *Lasiodiplodia* spp en plantas de aguacate, el LA-VLCA3 y el LA-VLCA2 con 7.56 y 6.13 cm en plantas de aguacate, probablemente fueron más agresivos por las condiciones de estrés implementadas al realizarse podas después de la inoculación.

De acuerdo a los resultados de Ganesh et al. (2022), observaron la presencia de lesiones longitudinales en el tallo de planta de mora, lesiones similares causadas por los aislados de este proyecto de investigación, lesiones longitudinales en el tallo de cacao.

Según los resultados obtenidos en este trabajo de investigación, se evidenció la similitud de este trabajo de investigación con los otros autores citados y, por lo tanto, se acepta la hipótesis planteada, al menos un aislado obtenido de *Lasiodiplodia* presenta patogenicidad.

#### **4.2. DEFINICIÓN DE LA SENSIBILIDAD *in vitro* A FUNGICIDAS COMERCIALES, DE LOS AISLADOS DE *Lasiodiplodia* spp.**

El porcentaje de inhibición de crecimiento micelial presentó diferencias significativas en las fuentes de variación de fungicidas, dosis y tratamientos para los dos aislados estudiados en este ensayo.

De forma más detallada, se puede manifestar que en el aislado 1, los fungicidas que se destacaron fueron difenoconazol y azoxystrobin+tridemorph con 93.20 y 86.02% de inhibición respectivamente; de la misma forma, la dosis más eficaz fue el alta con 67.28% en el crecimiento del hongo y finalmente el tratamiento que mejor control propició sobre el fitopatógeno fue Difenoconazol en dosis alta, al disminuir totalmente el crecimiento.

Para el aislado 2; los fungicidas que se destacaron fueron Azoxystrobin+Tridemorph y el Difenoconazol con 96.67 y 83.84% de inhibición; de tal forma, la dosis más eficaz fue el alta con 62.83% y finalmente el tratamiento que mejor control ejerció fue Azoxystrobin+Tridemorph en dosis alta, al disminuir totalmente al fitopatógeno.

**Tabla 4.2.** Cuadro de medias, Sensibilidad *in vitro* a fungicidas comerciales, de los aislados de *Lasiodiplodia* spp.

<b>Tratamiento A*B</b>	<b>Aislado 1</b>	<b>Aislado 2</b>
<b>Interacción Fungicida*Dosis</b>	<b>%</b>	<b>%</b>
Difenoconazol Alta	100 A	84.31 BC
Difenoconazol Media	87.64 BC	83.89 BC
Difenoconazol Baja	91.95 AB	83.33 BC
Azoxystrobin+Tridemorph Alta	86.39 BC	100 A
Azoxystrobin+Tridemorph Media	83.89 BCD	97.64 A
Azoxystrobin+Tridemorph Baja	86.39 BCD	92.36 AB
Trifloxystrobin+Tebuconazol Alta	79.17 CD	79.03 C
Trifloxystrobin+Tebuconazol Media	77.36 D	79.17 C
Trifloxystrobin+Tebuconazol Baja	89.58 B	79.03 C
Clorotalonil Alta	63.34 E	50.56 D
Clorotalonil Media	67.5 E	48.20 D
Clorotalonil Baja	63.34 E	34.72 E
Sulfato de Cobre Pentahidratado Alta	0 F	0.28 F
Sulfato de Cobre Pentahidratado Media	0 F	3.89 F
Sulfato de Cobre Pentahidratado Baja	0 F	5 F
CV %	5.48	6.04
<b>FACTORES</b>		
<b>Fungicidas (A)</b>	<b>%</b>	<b>%</b>
Difenoconazol	93.20 A	83.84 B
Azoxystrobin+Tridemorph	86.02 B	96.67 A
Trifloxystrobin+Tebuconazol	81.78 C	79.07 C
Clorotalonil	66.67 D	44.49 D
Sulfato de Cobre Pentahidratado	0 E	3.06 E
<b>DOSIS (B)</b>	<b>%</b>	<b>%</b>
Alta	67.28 A	62.83 A
Baja	66.25 A	62.56 A
Media	63.06 B	58.89 B

En el aislado 1, el Difenoconazol demostró ser el fungicida más eficaz en el desarrollo, concordando con el trabajo de Torres, (2023); demostró la sensibilidad de este fungicida y lo categorizó como “Muy sensible”, corroborando de esta forma la eficacia que tuvo contra el fitopatógeno; la eficacia de este fungicida, está relacionada con su mecanismo de acción, ya que al ser perteneciente al grupo de los triazoles, inhibe la síntesis de ergosterol, el cual comprende lípidos principales que favorece la acción de quitina sintetasa, encargada del crecimiento, división celular y por su modo de acción de inhibir la síntesis de ergosterol (Nocua et al., 020).

Según Tadey, (2023), el tebuconazol fue eficaz en inhibir el crecimiento micelial de *Lasiodiplodia* spp al 100%, esto debido al ser un triazol, por lo tanto, hay un aproximado en este trabajo de investigación al ejercer control *in vitro* en los aislados de *Lasiodiplodia* spp. Según Cantú, (2022), el fungicida Propiconazol, demostró eficacia en el desarrollo del hongo al 100%, probablemente por su mecanismo de acción de inhibir la síntesis de ergosterol, la esporulación, interviene en la síntesis de los esteroides, similar a este trabajo inhibiendo al 100% el desarrollo micelial de este fitopatógeno.

En el aislado 2, el Azoxystrobin+Tridemorph fue el fungicida más eficaz, similar al trabajo de Ayón et al., (2023), demostrando que fungicidas combinados con Azoxystrobin inhiben el crecimiento de *Lasiodiplodia* spp al 100%; probablemente por su modo de acción de las estrobilurinas en interrumpir la cadena de transporte de electrones, lo que impide la respiración de los hongos y la síntesis de ATP (Aguilera, 2023).

Tiene concordancia con el trabajo realizado por Núñez et al. s.f.) revelando la eficacia del Pyroclastrobin en la inhibición de desarrollo del *Lasiodiplodia* spp con 100% en su totalidad. Mientras que, el Trifloxystrobin usado por Valle et al. 2019), manifestaron la eficacia de este fungicida en la inhibición del crecimiento micelial de los aislados de *Lasiodiplodia* spp en un 100%, concordando con este trabajo de investigación que también se logró un 100% de eficacia en la inhibición de este fitopatógeno, probablemente por su mecanismo de acción del grupo de las estrobilurinas.

El Sulfato de Cobre Pentahidratado causó poca inhibición en el crecimiento micelial del hongo; probablemente, por ser un fungicida I debido a que es un fungicida cuyo mecanismo de acción principal está relacionado con la protección, en pocas palabras, es protectante, por lo tanto, para el aislado 1, concuerda con los resultados de Moreira, (2021), debido a que este fungicida no causó inhibición en el *Lasiodiplodia* spp en condiciones *in vitro*. Debido a su baja eficacia en el control *in vitro* contra el aislado 2; evidenciando una concordancia con el trabajo de investigación de Tuesta, (2023), en qué observó poca inhibición contra el hongo *Lasiodiplodia* spp en dosis de este fungicida.

La eficacia de los fungicidas como el Difenconazol y el Azoxystrobin+Tridemorph demostraron ser los más eficaces en la inhibición de este hongo comparado con los otros fungicidas de menor eficacia, por ende, se cumple una parte de la hipótesis, al menos un fungicida ejerce control *in vitro* sobre el hongo.

## CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### CONCLUSIONES

- La patogenicidad de los aislados de *Lasiodiplodia* provenientes del cultivo de cacao; fueron patogénicos, siendo los P4 y SM9 los de mayor agresividad.
- Los fungicidas con mayor sensibilidad para el aislado 1 fue Difenconazol, y para el aislado 2 el Azoxystrobin+Tridemorph, en dosis altas.

### RECOMENDACIONES

- Identificar de manera molecular, las especies de *Lasiodiplodia* spp, dado que el aislado P4 y SM9 son semejantes en agresividad de acuerdo al análisis de varianza.
- Aplicar dosis alta de Azoxystrobin+Tridemorph y Difenconazol en condiciones de campo.

## BIBLIOGRAFÍA

Adama. ((24 de noviembre del 2023). *Mastercop* SC.

- <https://www.adama.com/colombia/es/agroquimicos/fungicidas/mastercops>
- Aguilera, A. (2023). *Sensibilidad de aislados de Neopestalotiopsis spp. obtenidos de fresa a fungicidas de diferente modo de acción*. [Maestría en Ciencias en Protección Vegetal, Universidad Autónoma Chapingo]. <https://repositorio.chapingo.edu.mx/items/5fbff569-60c9-480d-a2e2-b8685f14582c>
- Abbot, W. (1925). A method for computing the effectiveness of the insecticide. *Journal of Economic Entomology*. Vol 18. 265-267.
- Asmán, A; Rosmana, A; Baley, B; Shahin, A; Stream, M; Amín, N; Juliani, U y Anska. (s.f.). *Lasiodiplodia theobromae*: an emerging threat to cocoa causes dieback and canker disease in Sulawesi. *PROCEEDINGS*. 80-84. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20203545973>
- Ayón, C; Ríos, C; Luna, G; López, G; Estrada, M; Cambero, O. (2023). Supresión in vitro de patógenos fúngicos de raíz en *Annona muricata* L. por cepas de *Trichoderma* y fungicidas convencionales.: Supresión de patógenos de raíz de guanábana. *Revista Bio Ciencias*. Vol. 10. 1-15 <https://doi.org/10.15741/revbio.10.e1497>
- Bayer. (s.f.). *Nativo fungicida agrícola*. Agro Bayer Ecuador. [https://www.agro.bayer.ec/es-ec/productos/product-details.html/fungicide/nativo\\_sc.html](https://www.agro.bayer.ec/es-ec/productos/product-details.html/fungicide/nativo_sc.html)
- Blog Agricultura. (17 de febrero 2023). *¿Qué son los fungicidas y cuál es su importancia?* <https://blogagricultura.com/importancia-fungicidas-agricolas/>
- Cantú, K. (2022). *Etiología de la muerte regresiva de árboles de aguacate en Sabinas Hidalgo, Nuevo León*. [Título de Maestría, Universidad Autónoma de Nuevo León]. <http://eprints.uanl.mx/24233/1/1080328676b.pdf>
- Cedeño, J. (2014). *Evaluar la eficiencia de dos fungicidas para combatir la muerte regresiva Lasiodiplodia theobromae en el desarrollo vegetativo de injertos de cacao tipo nacional* [Título de pregrado, Universidad Técnica Estatal de Quevedo].



<https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/4272/1/T-UTEQ-0223.pdf>

CEPAL. (2018). La Agenda 2030 y los Objetivos de Desarrollo Sostenible Una oportunidad para América Latina y el Caribe Gracias por su interés en esta publicación de la CEPAL. In *Publicación de las Naciones Unidas* (Naciones U).

[https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/40155/24/S1801141\\_es.pdf](https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/40155/24/S1801141_es.pdf)

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAOSTAT]. (2023). *Producción de cacao\_FAOSTAT*. <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL/visualize>

Díaz, G; Váldez, A; Hallen, Ferrada, E; Lolas, M; Latorre, B. (2021). Characterization and Pathogenicity of *Diplodia*, *Lasiodiplodia*, and *Neofusicoccum* Species Causing Botryosphaeria Canker and Dieback of Apple Trees in Central Chile. *Journal Plant Disease*. 106 (3). 925-937. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-06-21-1291-RE>

Escobar, A. (2021). *Identificación y patogenicidad del agente causal de la muerte descendente de ramas en árboles en Cautla, Morelos* [Universidad Autónoma del Estado de Morelos]. [http://riaa.uaem.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/20.500.12055/3169/EONA\\_XR06.pdf?sequence=1](http://riaa.uaem.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/20.500.12055/3169/EONA_XR06.pdf?sequence=1)

ESPAM-MFL. (2010). *Ubicación geográfica proporcionada por el Instituto nacional de Meteorología e Hidrología*.

Flores, H., Flores, J., Varela, S., Pérez, A., Azuara, A.; Monteon, A. (2021). Reporte de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon y Maubl. en árboles cítricos de Tamaulipas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12(3), 499–511. <https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v12n3/2007-0934-remexca-12-03-499.pdf>

Ganesh, B; Arunakumar, G; Avuthu, T; Supriya, M; Manojkumar, H; Shalin, D. (2022). Characterization and Pathogenicity of *Lasiodiplodia theobromae* Causing Black Root Rot and Identification of Novel Sources of Resistance in

Mulberry Collections. *The Plant Pathology Journal*. 38(4). 272-286.  
<https://www.ppjonline.org/upload/pdf/PPJ-OA-01-2022-0005.pdf>

González V.; Tello, M. (2011, mayo 5). *Enfermedades emergentes de la madera de vid de la zona centro de España - Vitivinícola*.  
<https://www.interempresas.net/Vitivinicola/Articulos/51545-Enfermedades-emergentes-de-la-madera-de-vid-de-la-zona-centro-de-Espana.html>

Heliti. (s.f.). *Helcore*. Helm Andina SAS. <https://www.helmandina.com/crop-protection/details/d/han-helcore>

Huamán, R. (2023). "*Etiología y control de la pudrición del tallo de la vid, en la localidad de chincha – Ica*. [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional Agraria La Molina].  
<https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/2110/H20-H83-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Interoc. (s.f.). *Topgun*. Agrizon. <https://www.e-agrizon.com/wp-content/uploads/2020/10/FT-TOPGUN.pdf>

Jimenez, N. (2023). *Inducción de resistencia a Lasiodiplodia theobromae en palto (Persea americana Mill.) en condiciones de La Molina* [Universidad Nacional Agraria La Molina].  
<https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/5766/jimenez-ariza-nery-veronica.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Kubicek, C; Starr, T; Glass, N. (2014). Plant Cell Wall–Degrading Enzymes and Their Secretion in Plant-Pathogenic Fungi. *The Annual Review of Phytopathology*. 427-451.  
[https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/36128184/Plant\\_Cell\\_Wall-Degrading\\_Enzymes-libre.pdf?1420323983=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPlant\\_Cell\\_Wall\\_Degrading\\_Enzymes\\_and\\_Th.pdf&Expires=1716669694&Signature=PsEbSMNmU4TuTBGk1MIHG0rX1R4v7iDxso5jmunVLR-uzRj6pk0IP~zRv7blU50vYUD3q65MQBs5TKSAo4O7gPp6YrV1iCTYUwyxh9Dyq1thrvXE52-](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/36128184/Plant_Cell_Wall-Degrading_Enzymes-libre.pdf?1420323983=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPlant_Cell_Wall_Degrading_Enzymes_and_Th.pdf&Expires=1716669694&Signature=PsEbSMNmU4TuTBGk1MIHG0rX1R4v7iDxso5jmunVLR-uzRj6pk0IP~zRv7blU50vYUD3q65MQBs5TKSAo4O7gPp6YrV1iCTYUwyxh9Dyq1thrvXE52-)

CAI~xysRIxP3~2WKmBAq5iwCyORnBU1UQXIQwNX7JLiODZb9-  
 JoufneqOA4yTDSbjmB8NIAnFyWDLjv-  
 CAjQmJWzehwhpihCRjq5CXyptP3AeOmSTBtyt4oz-MHcjG8nFHrnEVL-  
 3H9AJec8mDJEjdaw9Wkrj3yFLKSdjzYv3rtkHrF59Fa~DggcSZqZ7OPgXX  
 XL4bMQdbyw5r8LOmlye48UA3MSxNqDdg\_\_&Key-Pair-  
 Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA

Lectónc, P. (2020). *Patogenicidad, caracterización cultural y sensibilidad in vitro de Phytophthora spp. asociado a mazorca de cacao* [Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López]. <https://repositorio.espam.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/42000/1336/TTA09D.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Recuperado el 15 de julio del 2023.

Lovato, A.; Gutiérrez, S.; Carmona, M. (2017). Sensibilidad *in vitro* de *Trichoconiella padwickii* a diversos principios activos usados como fungicidas en el cultivo del arroz. *Revista Argentina de Microbiología*, 49(1), 71. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.11.002>

Martínez, M. (2019). *Identificación morfológica y molecular y sensibilidad a fungicidas in vitro del agente causal de la muerte descendente de Ficus benjamina L. en el oriente del Estado de Morelos*. [Tesis de grado, Universidad Autónoma del Estado de Morelos]. <http://www.riaa.uaem.mx/xmlui/bitstream/handle/20.500.12055/3158/MALM PR00T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Mohali, S; Burgess, T; Wingfield, M (2005). Diversity and host association of the tropical tree endophyte *Lasiodiplodia theobromae* revealed using simple sequence repeat markers. *Forest Pathology*, 35(6), 385–396. [https://www.researchgate.net/publication/222106760\\_Diversity\\_and\\_host\\_association\\_of\\_the\\_tropical\\_tree\\_endophyte\\_Lasiodiplodia\\_theobromae\\_revealed\\_using\\_SSR\\_markers](https://www.researchgate.net/publication/222106760_Diversity_and_host_association_of_the_tropical_tree_endophyte_Lasiodiplodia_theobromae_revealed_using_SSR_markers)

Moreira, A; Cedeño, Á; Canchignia, F; Garcés, F. (2021). *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maul [(sin.) Botryodiplodia theobromae Pat] en el cultivo de cacao: síntomas, ciclo biológico y estrategias de manejo. *Scientia Agropecuaria*, 12(4), 656.

<https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop/article/view/4110/4627>

Moreira, A. (2021). *Patogenicidad inducida y reacción in vitro a fungicidas para el control de Lasiodiplodia spp. en mango (Mangifera indica L.)*. [Trabajo de titulación, Universidad de Guayaquil]. <https://repositorio.ug.edu.ec/server/api/core/bitstreams/a7ae40e2-aae8-4a0f-8b37-f3b9b58061e8/content>

Netto, M., Assunsao, I., Lima, G., Marques, M., Lima, W., Monteiro, J., de Queiroz, V., Michereff, S., Phillips, A., & Camara, A. (2014). Especies de *Lasiodiplodia* asociadas con la pudrición del pedúnculo de la papaya en Brasil. *Diversidad Fúngica*, 67, 136. <http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede/bitstream/tede2/6627/2/Mariote%20dos%20Santos%20Brito%20Netto.pdf>

Nocua, L.; Uribe, P.; Tarazona, L.; Robles, R y Cortés, J. (2020). Azoles de antes y ahora: una revisión. *Revista chilena Infectol*, 37 (3), 219-230. <https://www.scielo.cl/pdf/rci/v37n3/0716-1018-rci-37-03-0219.pdf>

Núñez. P; Carrillo, J; Tovar, J; Valdez, J y López, C. (s.f.). Sensibilidad a fungicidas de aislados de *Lasiodiplodia* spp. de limón persa en Sinaloa, México. *Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD)*. [https://www.smf.org.mx/sistema/files\\_2022/documentosCongreso/R21MHME-F3V3SPS8GCKUBCKRQXN620220825-AP-20220930.pdf](https://www.smf.org.mx/sistema/files_2022/documentosCongreso/R21MHME-F3V3SPS8GCKUBCKRQXN620220825-AP-20220930.pdf)

Pérez, C; Wingfield, M; Zapatillas, B y Altier, N. (2010). Endophytic and canker-associated Botryosphaeriaceae occurring on non-native Eucalyptus and native Myrtaceae trees in Uruguay. *Fungal Diversity*. 41(1). 53-69. [https://www.researchgate.net/publication/225836335\\_Endophytic\\_and\\_canker-associated\\_Botryosphaeriaceae\\_occurring\\_on\\_non-native\\_Eucalyptus\\_and\\_native\\_Myrtaceae\\_trees\\_in\\_Uruguay](https://www.researchgate.net/publication/225836335_Endophytic_and_canker-associated_Botryosphaeriaceae_occurring_on_non-native_Eucalyptus_and_native_Myrtaceae_trees_in_Uruguay)

Pegg, K; Coates, L; Korsten, L; Harding, R. (2003). Foliar, Fruit and Soilborne Diseases. *The Avocado: Botany, Production and Uses*. 299-398. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20083015155>

- Phillips, A.; Alves, A.; Correia, A.; Luque, J. (2005). Dos nuevas especies de *Botryosphaeria* con ascosporas marrones de 1 tabique y Anamorfos de *Dothiorella*. *Mycologia*, 97(2), 513–529. [http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede/bitstream/tede2/6627/2/Mariote dos Santos Brito Netto.pdf](http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede/bitstream/tede2/6627/2/Mariote%20dos%20Santos%20Brito%20Netto.pdf)
- Picos, P.; García, R.; León, J.; Sañudo, A., y Allende, R. (2015). *Lasiodiplodia theobromae* en Cultivos Agrícolas de México: Taxonomía, Hospedantes, Diversidad y Control. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 33(1), 69. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v33n1/2007-8080-rmfi-33-01-00054.pdf>
- Ploetz, R. (2003). *Diseases of Tropical Fruit Crops*. CABI Publishing. Wallingford, UK. pp 76-77. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20033099826>
- Portilla, F., y Melgarejo, J. (2011). Mecanismo de acción de los fungicidas. *Revista Ventana Al Campo*, 1, 193–102. [https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/55617187/Fungicidas-libre.pdf?1516742754=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DMECANISMO\\_DE\\_ACCION\\_DE\\_LOS\\_FUNGICIDAS.pdf&Expires=1689709875&Signature=ECKpuXheMfUG2HP1xUBO7YPgaITIGBVAn1A-YfXyWfaL16-vkCCE2-0wXwcl0rA4djXCEXmERRYGgR8PKz~I9uLrf2QHu9YFUqYo6e1-ecJLg9wCUAkbbadqaQF4jjaiRN2NutlWXXUoHajx9EGXu-4YkgyASrs7F6-tiGj7guLGV6bsEAOTFKxFOPKDD7NCWmeIW5gUBMYDX4UncxodXW1SbLmORrZIX~l-U4R47dWEgCYgtnXzxhZcX6NfpHIGxm0LQo0yeEsQz9noxIR5U-yuQukbaSpofeH7DxzLgqg-8DxTyDTplyRtCaBT11yL15-L25yK-anXMCOQS81Vw\\_\\_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/55617187/Fungicidas-libre.pdf?1516742754=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DMECANISMO_DE_ACCION_DE_LOS_FUNGICIDAS.pdf&Expires=1689709875&Signature=ECKpuXheMfUG2HP1xUBO7YPgaITIGBVAn1A-YfXyWfaL16-vkCCE2-0wXwcl0rA4djXCEXmERRYGgR8PKz~I9uLrf2QHu9YFUqYo6e1-ecJLg9wCUAkbbadqaQF4jjaiRN2NutlWXXUoHajx9EGXu-4YkgyASrs7F6-tiGj7guLGV6bsEAOTFKxFOPKDD7NCWmeIW5gUBMYDX4UncxodXW1SbLmORrZIX~l-U4R47dWEgCYgtnXzxhZcX6NfpHIGxm0LQo0yeEsQz9noxIR5U-yuQukbaSpofeH7DxzLgqg-8DxTyDTplyRtCaBT11yL15-L25yK-anXMCOQS81Vw__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA)
- Umezurike G. 1979. The cellulolytic enzymes of *Botryodiplodia theobromae* Pat. *Biochemistry Journal*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1186335/pdf/biochemj00471-0019.pdf> 177:9-19.

- Valle, M; Guillén, D; Alia, I; López, V; Juárez, P; Martínez, E; Hernández, M; Ariza, R. (2019). Control *in vitro* de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl y *L. citricola* Abdollahz aislados de lima persa (*Citrus latifolia* Tanaka) en Morelos, México. *AGRÍCOLA Y PECUARIA*. 5. 1-10. <http://riaa.uaem.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/20.500.12055/1159/299-Texto%20del%20art%C3%ADculo-1450-1-10-20190730.pdf?sequence=1>
- Rahim, A., Shakirah, H., Mohd, N., Mohamed, I., Leong, Y., y Mohd, M. (2022). *Lasiodiplodia theobromae* como patógena causal del tizón de cancro del tallo y pudrición de la vaina de *Theobroma cacao* en Malasia. *Natura Portfolio*, 12(8966), 1–14. <https://www.nature.com/articles/s41598-022-13057-9#:~:text=Lasiodiplodia%20theobromae%20was%20confirmed%20to,on%20cocoa%20in%20Ecuador31>.
- Ravello, M. (2019). *Caracterización de aislados de Lasiodiplodia theobromae asociado a muerte regresiva en manzanos* [Memoria de título, Universidad de Talca]. <http://dspace.otalca.cl/bitstream/1950/12042/3/20190177.pdf>
- Reveglia, P; Masi, M; Cimmino, A; Michereff, S; Cinelli, T; Mugnai, L; Evidente, A. (2019). Phytotoxins produced by *Lasiodiplodia laeliocattleyae* involved in Botryosphaeria dieback of grapevines in Brazil. *Phytopathologia Mediterranea*. 58(1): 207-211. <https://oajournals.fupress.net/index.php/pm/article/view/5809>
- Rodríguez, E; Hilário, S; Lopes, A y Alves, A. (2020). Diversity and pathogenicity of *Lasiodiplodia* and *Neopestalotiopsis* species associated with stem blight and dieback of blueberry plants in Peru. *Eur J Plant Pathol*. 157. 89–102. [doi.org/10.1007/s10658-020-01983-1](https://doi.org/10.1007/s10658-020-01983-1)
- Rodríguez, E; Hilário, S; Batista, E; Lopes, A y Alves, A. (2021). *Lasiodiplodia* species associated with dieback of avocado in the coastal area of Peru. *Eur J Plant Pathol*. 161. 2019-232. <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02317-5>
- Rusin, C., Cavalcanti, F., Giloni, P., Duarte, C., Kurtz, M., y Vasconcelos, R. (2020). Control of the fungi *lasiodiplodia theobromae*, the causal agent of

dieback, in cv. Syrah grapevines. *Acta Scientiarum - Agronomy*, 43(1), 1–9.  
<https://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAgron/article/view/44785>

Santos, R. (2019). *Enfermedades fungosas en frutos de mango (Mangifera indica L.) en post-cosecha en Piura, 2017* [Título de pregrado, Universidad Nacional de Piura].  
<https://repositorio.unp.edu.pe/bitstream/handle/UNP/2156/AGR-SAN-MEZ-2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Sartorato, A. (2006). Sensibilidad “*in Vitro*” De Isolados De Colletotrichum lindemuthianum a fungicidas. *Pesquisa Agropecuaria Tropical*, 36(3), 211–213. <https://www.redalyc.org/pdf/2530/253020206011.pdf>

Shahbaz, M; Iqbal, Z; Saleem, A; Akbar, M. (2009). Association of *Lasiodiplodia theobromae* with different decline disorders in mango (*Mangifera indica L.*). *Pakistan Journal of Botany* 41:359-368.  
[https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/97105255/PJB411359-libre.pdf?1673380789=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DAssociation\\_of\\_Lasiodiplodia\\_theobromae.pdf&Expires=1716660392&Signature=ZcK1VI8DS7ru0CIPhCx0e2HKpq8QMR3z9FtkiWH3h3ETtPcuYszaPxRMS9YvrsU-5oUYbtScBf2CGkb8n5Fhf~-Is9cAMSUyshNBG8CBE2Lc1JyEemChEOyfLmzuOwkQFAr1po7IIM4CXeHWvQwGD-e6wKIByH364UiZGsSP-QLdr~t8wyuYdwjsEUUHybNLicIEBF4g2HsdsoGf3glFyo5xrPj7CmDnvgpKiMG5~5F6cemzG7VbCNMN5Bo0-HA-sL4w6cjc67bAKKttYfWZQP81U7GjJrFf0US0zf3dgoQW2ANZ-EiXr9Z~z3e1lmCm6OZk-Cz8hIEH3xuXglr45A\\_\\_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/97105255/PJB411359-libre.pdf?1673380789=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DAssociation_of_Lasiodiplodia_theobromae.pdf&Expires=1716660392&Signature=ZcK1VI8DS7ru0CIPhCx0e2HKpq8QMR3z9FtkiWH3h3ETtPcuYszaPxRMS9YvrsU-5oUYbtScBf2CGkb8n5Fhf~-Is9cAMSUyshNBG8CBE2Lc1JyEemChEOyfLmzuOwkQFAr1po7IIM4CXeHWvQwGD-e6wKIByH364UiZGsSP-QLdr~t8wyuYdwjsEUUHybNLicIEBF4g2HsdsoGf3glFyo5xrPj7CmDnvgpKiMG5~5F6cemzG7VbCNMN5Bo0-HA-sL4w6cjc67bAKKttYfWZQP81U7GjJrFf0US0zf3dgoQW2ANZ-EiXr9Z~z3e1lmCm6OZk-Cz8hIEH3xuXglr45A__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA)

Shao, J., Balidion, J., Strem, M., Pulg, A., Meinhardt, L., & Bailey, B. (2019). Análisis del genoma y transcriptoma del latente patógeno *Lasiodiplodia theobromae*, una amenaza emergente para la industria de cacao. *Genome*, 3. 1-46. <https://tspace.library.utoronto.ca/bitstream/1807/98212/1/gen-2019-0112.pdf>

- Tadey, S. (2023). *Control químico y biológico de Lasiodiplodia spp. causante de muerte regresiva en el cultivo de palto 'hass' (Persea americana Mill)*. [tesis para optar el título de ingeniera agrónoma, Universidad Agraria La Molina]. <https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/6106/tadey-tupac-sharon-sheyla.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Tenegusñay, V. (2022). *Sensibilidad in vitro de Moniliophthora rorei H.C Evans, agente causal de la moniliasis del cacao (Theobroma cacao L.) a fungicidas de diferentes modos de acción* [Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/18365/1/13T01063.pdf>
- Torres, N. (2023). *DIVERSIDAD GENÉTICA DE Lasiodiplodia theobromae (Pat.) Griffon & Maubl. EN PITAHAYA Y SENSIBILIDAD A FUNGICIDAS DE DIFERENTES MODOS DE ACCIÓN*. [Trabajo de Integración Curricular, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/19378/1/13T01103.pdf>
- Tridente. (s,f.). *Ficha técnica Clorotalonil 720*. Agroquímicos Tridente S.A. [https://www.tridente.com.mx/media/agrproducts/CLOTALONIL\\_720\\_FICHA\\_TECNICA\\_02\\_2019.pdf](https://www.tridente.com.mx/media/agrproducts/CLOTALONIL_720_FICHA_TECNICA_02_2019.pdf)
- Tuesta, D. (2023). *Eficiencia in vitro de fungicidas con distinto modo de acción en el control de Lasiodiplodia theobromae*. [Tesis para optar el título profesional de ingeniero agrónomo, Universidad Nacional de Piura]. <https://repositorio.unp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12676/4480/AGRO-TUE-BER-2023.pdf?sequence=1>
- Xing, Q; Zhou, X; Cao, Y; Peng, J; Zhang, W; Wang, X; Wu, J; Li, X; Yan, J. (2023). The woody plant-degrading pathogen *Lasiodiplodia theobromae* effector LtCre1 targets the grapevine sugarsignaling protein VvRHIP1 to suppress host immunity. *Journal of Experimental Botany*. 74 (8). 2768–2785.



[https://watermark.silverchair.com/erad055.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kkhW\\_Ercy7Dm3ZL\\_9Cf3qfKAac485ysgAAA0kwggNFBgkqhkiG9w0BBwagggM2MIIDMgIBADCCAysGCSqGSIb3DQEHATAeBgIghkgBZQMEAS4wEQQMDORrqtALfxtILSs-AgEQgIIC\\_I6BfYCBLseGiEIW0UW5ldrl0BTD-Pt2q1pVQm7P2AIPJNwQXAxaacIxxr008-nh7HCI8ipxi50UUZRZQOnpDSX0S\\_tyIH78Lj2ImYjGf2RrYKk2Rq4EaqsCreN\\_twp-qB6H4pTvz6Sjza\\_Rucy2gy6vdyNf4bRd-KQieGjmO\\_\\_yHZ7DUvpA-2DsHAFK8Tb4Mi219eeVxp7aBDn8IZvJM0MGgqjwW4PIrckyCkINauaDvY88dEh3ewDtDOjzJVTC3ETSZxAd0HNriQZ2\\_SdOVud2yfJviFm8KcIyr8RzWfWV6PGaBc-giClsv0AoZuXoMHJ7WNUvvoY0gSqljod1AxAQ998IAb5CDcj-5n5cx-ckn-qvs49Ks\\_FYxiyP9gh0zhp6MZsoAR\\_e\\_UDjGGc5gqitPmjJat2ctyzqJWFVVOKQ6Rk8wZ1EBWYkBgS\\_O1\\_DTQPziqDAFzN-POaLTqDOQ1CmlaRVyo-MhMoEcgrk7qGLTfE0Tq8kPeSRtdoLgPuFi5sQi\\_5PgM4YIsrcGX6hEsEEIF0SYPT1nCsOhi7VOWuS-1kti4QmCUOZ6jEESAhzeZ1Zzj8BgOLRvY7LzYKmkLM3YmVmYZ9fufRP57SeCCFQ9YHJgBUrfVTabPEhwxSmRZ\\_8WjlXrbUUFi-uAvHgC9QdWeVULcEmeBEY2Nfg1BXtFSGLWWuabDCsUZlg3cTnYqXYa8cvz03WiwXPQ7pz07SGMgqVwVMkeAG\\_4WfZwpWYUxIVRXijP0kNpMj8-c01GrzWwln\\_WEB03pOvZNm5c3JBohAknJ2I6t4pbCe0L18qHEVE5z0hpGcbaRoiL0vW\\_Qvvn6bD7NhxhcDb-\\_lBnnNmcatsabDJLxjQnbt4rDaL39QhBFmclzU3QaTuZ3hIrtLkBVAqtTTQvRITffg0OtGppWRCHhOp4icN1IW\\_nBo3RKyRIOFBwYAtpQBQgNqCz9mPlfLDF7YTDDehZeyQXAP9jypDnitHigKKly0RRokqcb8vZf2yY4PJID4B](https://watermark.silverchair.com/erad055.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kkhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAac485ysgAAA0kwggNFBgkqhkiG9w0BBwagggM2MIIDMgIBADCCAysGCSqGSIb3DQEHATAeBgIghkgBZQMEAS4wEQQMDORrqtALfxtILSs-AgEQgIIC_I6BfYCBLseGiEIW0UW5ldrl0BTD-Pt2q1pVQm7P2AIPJNwQXAxaacIxxr008-nh7HCI8ipxi50UUZRZQOnpDSX0S_tyIH78Lj2ImYjGf2RrYKk2Rq4EaqsCreN_twp-qB6H4pTvz6Sjza_Rucy2gy6vdyNf4bRd-KQieGjmO__yHZ7DUvpA-2DsHAFK8Tb4Mi219eeVxp7aBDn8IZvJM0MGgqjwW4PIrckyCkINauaDvY88dEh3ewDtDOjzJVTC3ETSZxAd0HNriQZ2_SdOVud2yfJviFm8KcIyr8RzWfWV6PGaBc-giClsv0AoZuXoMHJ7WNUvvoY0gSqljod1AxAQ998IAb5CDcj-5n5cx-ckn-qvs49Ks_FYxiyP9gh0zhp6MZsoAR_e_UDjGGc5gqitPmjJat2ctyzqJWFVVOKQ6Rk8wZ1EBWYkBgS_O1_DTQPziqDAFzN-POaLTqDOQ1CmlaRVyo-MhMoEcgrk7qGLTfE0Tq8kPeSRtdoLgPuFi5sQi_5PgM4YIsrcGX6hEsEEIF0SYPT1nCsOhi7VOWuS-1kti4QmCUOZ6jEESAhzeZ1Zzj8BgOLRvY7LzYKmkLM3YmVmYZ9fufRP57SeCCFQ9YHJgBUrfVTabPEhwxSmRZ_8WjlXrbUUFi-uAvHgC9QdWeVULcEmeBEY2Nfg1BXtFSGLWWuabDCsUZlg3cTnYqXYa8cvz03WiwXPQ7pz07SGMgqVwVMkeAG_4WfZwpWYUxIVRXijP0kNpMj8-c01GrzWwln_WEB03pOvZNm5c3JBohAknJ2I6t4pbCe0L18qHEVE5z0hpGcbaRoiL0vW_Qvvn6bD7NhxhcDb-_lBnnNmcatsabDJLxjQnbt4rDaL39QhBFmclzU3QaTuZ3hIrtLkBVAqtTTQvRITffg0OtGppWRCHhOp4icN1IW_nBo3RKyRIOFBwYAtpQBQgNqCz9mPlfLDF7YTDDehZeyQXAP9jypDnitHigKKly0RRokqcb8vZf2yY4PJID4B)

Zakaria, L. (2023). *Fusarium* Species Associated with Diseases of Major Tropical Fruit Crops. *Horticulturae*. 9(3). 322. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9030322>

## **ANEXOS**

**Anexo 1:** Llenado de fundas para el sembrío de cacao.



**Anexo 2:** Preparación de semillas de cacao



**Anexo 3:** obtención de los discos miceliares de los aislados de *Lasiodiplodia*.



**Anexo 4:** Ensayo de sensibilidad *in vitro* de los aislados de *Lasiodiplodia* spp provenientes del cultivo de cacao.



**Anexo 5:** Aislados cultivados en distintas dosis de fungicidas con medio de cultivo Papa Dextrosa Agar.



**Anexo 6:** Toma de datos del crecimiento micelial de los aislados de *Lasiodiplodia* spp.



**Anexo 7: Ensayo de patogenicidad.****Anexo 8: Monitoreo y riego en plantas inoculadas**

**Anexo 9:** Toma de datos de las lesiones de los aislados de *Lasiodiplodia* spp.

