



Pontificia Universidad Católica del Ecuador

Sede Ibarra

ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y AMBIENTALES

INFORME FINAL DEL PROYECTO

TEMA:

Evaluación de la actividad antifúngica *in vitro* de extractos totales de dos especies vegetales Marco y Molle frente a uno de los hongos patógenos causantes de *Phytophthora infestans* en Tomate Riñón.

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

INGENIERO AGROPECUARIO

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN:

Línea 4. Gestión sostenible y aprovechamiento de los recursos naturales.

SUBLINEA: Desarrollo y sostenibilidad

AUTOR: María del Cielo Hernández Reina.

ASESOR: Dra. Yadira Fernanda Ordoñez Vivanco, Ph.D.

Ibarra, febrero de 2024

Ibarra, febrero de 2024

Ph.D. Yadira Fernanda Ordoñez Vivanco

ASESOR

CERTIFICA:

Haber revisado el presente informe final de investigación, el mismo que se ajusta a las normas vigente en la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales (ECAA), de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra (PUCESI); en consecuencia, autorizo su presentación para los fines legales pertinentes.



(f).....

Ph.D. Yadira Fernanda Ordoñez Vivanco

C.C.: 110376486-4

PÁGINA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

El jurado examinador, aprueba el presente informe de investigación en nombre de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra (PUCESI):

(f).....

Ph.D. Yadira Fernanda Ordoñez Vivanco

C.C.: 110376486-4

(f).....

Ph.D. Diego Manuel León Tapia

C.C.: 1711668895

(f).....

MSc. Santiago Xavier Mafla Andrade

C.C.:1002658399

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS

Yo María del Cielo Hernández Reina, declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 165 de Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, que manifiesta textualmente: “Se reconoce facultad de los autores y demás titulares de derecho de disponer de sus derechos o autorizar de sus obras o prestaciones, a título gratuito u oneroso, según las condiciones que determinen. Esta facultad podrá ejercerse mediante licencias libres, abiertas y otros modelos alternativos de licenciamiento o la renuncia”.

Ibarra, febrero de 2024



María del Cielo Hernández Reina

C.C.: 100474927-9

AUTORÍA

Yo, María del Cielo Hernández Reina, portador de la cédula de ciudadanía N° 100474927-9, declaro que la presente investigación es de total responsabilidad del autor, y eximo expresamente a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra de posibles reclamos o acciones legales.



María del Cielo Hernández Reina

C.C.: 100474927-9

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, María del Cielo Hernández Reina, con C.C.: 100474927-9, autor del trabajo de grado intitulado: EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DE EXTRACTOS TOTALES DE DOS ESPECIES VEGETALES MARCO Y MOLLE FRENTE A UNO DE LOS HONGOS PATÓGENOS CAUSANTES DE *Phytophthora infestans* EN TOMATE RIÑÓN previo a la obtención del título profesional de Ingeniería Agropecuaria, en la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCESI el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Ibarra, febrero de 2024



María del Cielo Hernández Reina.
C.C.: 100474927-9

**DECLARACIÓN DE COMPORTAMIENTO ÉTICO EN LA ELABORACIÓN,
DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

Por medio de la presente declaro conocer y aplicar en la elaboración, desarrollo y evaluación de Proyecto de Titulación: EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DE EXTRACTOS TOTALES DE DOS ESPECIES VEGETALES MARCO Y MOLLE FRENTE A UNO DE LOS HONGOS PATÓGENOS CAUSANTES DE *Phytophthora infestans* EN TOMATE RIÑÓN, lo propuesto en el Código de Ética de la investigación y el aprendizaje de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, aprobado por el Consejo Superior de la PUCE con fecha 13 de febrero 2023.

Para constancia firma:



María del Cielo Hernández Reina
Estudiante que ejecuta el trabajo de Titulación
C.C/ Pasaporte: 100474927-9
Carrera: Ingeniería Agropecuaria/Ambiental/Zootecnia

Ibarra, 13 de febrero de 2023

DEDICATORIA

Esta meta va dedicada especialmente a Dios ya que me ayudo a cumplir este grandioso sueño, también a mis padres, hermana y abuelitos porque estuvieron siempre para apoyarme, guiarme y permitirme terminar esta carrera.

María Hernández

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer principalmente a Dios por ser un pilar fundamental en mi vida y nunca dejarme decaer en ningún momento, A mi madre ya que con su esfuerzo y dedicación pudo brindarme todo su apoyo para poder terminar la carrera satisfactoriamente.

También como no agradecer a mi asesora de tesis Ph.D. Yadira Ordoñez una persona intachable que siempre estuvo guiándome y ayudándome en todo este proceso de aprendizaje.

Y finalmente agradecer a todas las personas que conforman la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra por siempre brindarme su ayuda.

María Hernández

ÍNDICE

PORTADA	i
CERTIFICA:	ii
PÁGINA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	iii
ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS	iv
AUTORÍA	v
DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN	vi
DECLARACIÓN DE COMPORTAMIENTO ÉTICO EN LA ELABORACIÓN, DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN	vii
DEDICATORIA	viii
AGRADECIMIENTO	ix
ÍNDICE	x
ÍNDICE DE TABLAS	xv
ÍNDICE DE FIGURAS	xvi
ÍNDICE DE ANEXOS	xvii
RESUMEN	19
ABSTRACT	20
CAPÍTULO I	21
INTRODUCCIÓN	21
CAPÍTULO II	23
OBJETIVOS	23
2.1. Objetivo general	23
2.2. Objetivos específicos	23

2.3. Hipótesis	23
CAPÍTULO III	24
ESTADO DEL ARTE	24
3.1. Extractos Vegetales	24
3.2 Propiedades de los extractos vegetales.	25
3.3 Obtención de extractos	26
3.3.1. Extracción Mecánica.	26
3.3.2. Destilación.	26
3.3.3. Extracción con fluidos supercríticos.	26
3.3.4. Extracción con solventes.	26
3.4. Especies Vegetales en estudio.	27
3.4.1. Especie Vegetal <i>Schinus molle</i> L.	27
3.4.2. Actividad biológica de la especie vegetal en estudio.	28
3.4.3. Especie Vegetal <i>Ambrosia arborescens</i> Miller	28
3.4.4. Actividad biológica de la especie vegetal en estudio.	29
3.5. <i>Phytophthora infestans</i> .	29
3.5.1. Propagación de <i>Phytophthora infestans</i> .	30
3.5.2. Síntomas.	30
3.5.3. Morfología.	31
3.5.4 Evaluación de la eficacia de extractos vegetales contra el hongo <i>Phytophthora infestans</i>	32
3.6. Impacto ambiental y económico del uso de extractos vegetales.	32
3.7. Importancia del Cultivo de Tomate Riñón (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	33
3.7.1. Origen.	35

3.7.2. Taxonomía.	35
3.6.3. Características del Tomate Riñón.	36
CAPÍTULO IV	37
MATERIALES Y MÉTODOS	37
4.1. Materiales	37
4.1.1. Equipos de laboratorio	37
4.1.2. Materiales de laboratorio	38
4.1.3. Reactivos	38
4.2. Métodos	38
4.2.1. Recolección de la especie vegetal	38
4.2.2. Recolección e identificación taxonómica de especie vegetal	40
4.2.3. Obtención del extracto total.	41
4.2.4. Aislamiento del hongo <i>Phytophthora infestans</i> , aislado del fruto enfermo del tomate riñón <i>Solanum lycopersicum</i>	43
4.2.5. Caracterización morfológica del hongo <i>Phytophthora infestans</i> , aislado de frutos enfermos de tomate riñón <i>Solanum lycopersicum</i>	44
4.2.6. Caracterización molecular del hongo <i>Phytophthora infestans</i> , aislado de frutos enfermos de tomate riñón <i>Solanum lycopersicum</i>	45
4.3. Diseño experimental	46
4.3.1. Unidad experimental	46
4.3.2. Tratamientos	46
CAPÍTULO V	49
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
5.1. Obtención del extracto total de las especies vegetales.	49
5.2. Caracterización del hongo <i>Phytophthora infestans</i> .	50

5.2.1. Aislamiento del hongo <i>Phytophthora infestans</i> .	50
5.2.2. Caracterización morfológica.	51
5.2.3. Caracterización molecular.	52
5.3. Crecimiento diario del hongo <i>Phytophthora infestans</i>	53
5.4. Análisis estadístico de las variables	54
5.4.1. Prueba de normalidad y homogeneidad de la varianza.	54
5.4.2. Crecimiento de <i>Phytophthora infestans</i> con el extracto vegetal <i>Schinus molle</i> L.	54
5.4.3. Crecimiento de <i>Phytophthora infestans</i> con el extracto vegetal <i>Ambrosia arborescens</i> Miller	57
5.5 Evaluación antifúngica <i>in vitro</i> de las especies vegetales <i>Schinus molle</i> L y <i>Ambrosia arborescens</i> Miller.	59
5.5.1. Porcentaje de inhibición de <i>Phytophthora infestans</i> con el extracto vegetal <i>Schinus molle</i> L.	60
5.5.2. Porcentaje de inhibición de <i>Phytophthora infestans</i> con el extracto vegetal <i>Ambrosia arborescens</i> Miller	62
CAPÍTULO VI	65
CONCLUSIONES	65
CAPÍTULO VII	66
RECOMENDACIONES	66
CAPÍTULO VIII	67
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
ANEXOS	70

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Clasificación taxonómica de <i>Solanum lycopersicum</i> .	34
Tabla 2	Área de colecta de la especie <i>Schinus molle</i> L y <i>Ambrosia arborescens</i> Miller	39
Tabla 3	Tratamientos a evaluar	45
Tabla 4	Porcentaje de rendimiento del extracto total de la especie vegetal <i>Schinus molle</i> L.	48
Tabla 5	Evidencia de caracterización molecular del hongo <i>Phytophthora infestans</i>	52
Tabla 6	Crecimiento diario de <i>Phytophthora infestans</i> .	52
Tabla 7	Prueba de normalidad y homogeneidad de la varianza.	53
Tabla 8	Análisis de la varianza para crecimiento de <i>Phytophthora infestans</i> con el extracto vegetal <i>Schinus molle</i> L.	54
Tabla 9	Análisis de la varianza para crecimiento de <i>Phytophthora infestans</i> con el extracto vegetal <i>Ambrosia arborescens</i> Miller.	56
Tabla 10	Prueba de normalidad y homogeneidad de la varianza.	58
Tabla 11	Análisis de la varianza para crecimiento de <i>Phytophthora infestans</i> con el extracto vegetal <i>Schinus molle</i> L.	59
Tabla 12	Análisis de la varianza para crecimiento de <i>Phytophthora infestans</i> con el extracto vegetal <i>Ambrosia arborescens</i> Miller	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 <i>Schinus molle</i> L.	26
Figura 2 <i>Ambrosia arborescens</i> Miller.	28
Figura 3 Mapa en donde se obtuvo la especie vegetal.	39
Figura 4 Obtención del extracto	42
Figura 5 Aislamiento de <i>Phytophthora infestans</i>	43
Figura 6 Aislamiento de <i>Phytophthora infestans</i> .	49
Figura 7 Cultivo Puro de <i>Phytophthora infestans</i> .	50
Figura 8 Caracterización morfológica de <i>Phytophthora infestans</i> A. Parte frontal de la colonia B. Parte posterior de la colonia	51
Figura 9 Prueba de significancia Tukey al 5% crecimiento de <i>Phytophthora infestans</i> con el extracto vegetal de <i>Schinus molle</i> L	54
Figura 10 Prueba de significancia Tukey al 5% crecimiento de <i>Phytophthora infestans</i> con el extracto vegetal <i>Ambrosia arborescens</i> Miller.	57
Figura 11 Prueba de significancia Tukey al 5% porcentaje de inhibición de <i>Phytophthora infestans</i> con el extracto vegetal de <i>Schinus molle</i> L	60
Figura 12 Prueba de significancia Tukey al 5% porcentaje de inhibición de <i>Phytophthora infestans</i> con el extracto vegetal de <i>Ambrosia arborescens</i> Miller	62

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Recolección y limpieza de las especies vegetales.	57
Anexo 2 Selección de especies para montaje	57
Anexo 3 Prensado de los ejemplares del montaje para su secado	58
Anexo 4 Triturado de las especies vegetales en estudio para su secado	58
Anexo 5 Selección de frutos de tomate riñón con lesiones	59
Anexo 6 Siembra de lesiones de roña en el medio de cultivo SDA	59
Anexo 7 Crecimiento micelial en el medio de cultivo SDA	59
Anexo 8 Cultivo puro de <i>Phytophthora infestans</i>	60
Anexo 9 Muestras Maceradas de <i>Ambrosia arborescens</i> Miller y <i>Schinus molle</i> L.	60
Anexo 10 Filtrado de las muestras de <i>Ambrosia arborescens</i> Miller y <i>Schinus molle</i> L	61
Anexo 11 Muestra en el rotavapor para evaporar el solvente metanol	61
Anexo 12 Extracto total obtenido de las dos especies vegetales	61
Anexo 13 Elaboración de la concentración máxima del extracto	62
Anexo 14 Concentraciones de <i>Schinus molle</i> L	62
Anexo 15 Concentraciones de <i>Ambrosia arborescens</i> Miller	63
Anexo 16 Identificación Molecular	63

RESUMEN

Las plantas son propensas a ser atacadas por diversos microorganismos patógenos, lo que provoca importantes pérdidas tanto económicas como en el rendimiento de los cultivos. En el caso del tomate riñón se ha visto afectada la calidad del producto debido a varias enfermedades, pero la principal y que con mayor frecuencia se presenta se la conoce como tizón tardío (*Phytophthora infestans*) y para poder tratar de solucionar este problema se ha realizado el uso de extractos vegetales, tratando de reemplazar así el uso de fungicidas sintéticos y que a su vez reduzcan la contaminación ambiental y el impacto negativo que estos presentan con el medio ambiente. Este trabajo de investigación tiene la finalidad de evaluar la actividad antifúngica de extractos vegetales de plantas como Molle (*Schinus molle* L) y Marco (*Ambrosia arborescens* Miller) contra un fitopatógeno *Phytophthora infestans* responsable de causar tizón tardío en el fruto del tomate riñón. Se seleccionó dos especies vegetales mismas que fueron recolectadas en la comuna Zuleta cantón Ibarra provincia de Imbabura, las dos especies vegetales pasaron por un proceso de deshidratación para así poder obtener un extracto total mediante un proceso llamado maceración dinámica y para ello se hizo uso de un solvente llamado metanol a varias concentraciones seriadas que son 500, 250, 125 y 62.5 mg/ml con la ayuda de la metodología Kirby-Bauer, realizando la difusión directa en agar sobre el agente fitopatógeno previamente aislado *Phytophthora infestans*. En la actualidad ya se han evaluado los extractos vegetales para varios cultivos entre estos estudios está el cultivo de tomate riñón. La gran diversidad de plantas en que nos ofrece nuestra biodiversidad es una fuente de compuestos bioactivos para la obtención de potenciales extractos naturales que fortalezcan el control orgánico de las enfermedades en el cultivo de tomate de árbol.

Palabras clave: *Phytophthora infestans*; *Schinus molle* L; *Ambrosia arborescens* Miller; extractos vegetales; tizón tardío.

ABSTRACT

Plants are prone to being attacked by various pathogenic microorganisms, which causes significant losses both economically and in crop yields. In the case of the kidney tomato, the quality of the product has been affected due to several diseases, but the main one that occurs most frequently is known as late blight (*Phytophthora infestans*) and in order to try to solve this problem, a the use of plant extracts, thus trying to replace the use of synthetic fungicides and in turn reduce environmental pollution and the negative impact that these have on the environment. This research work aims to evaluate the antibacterial and antifungal activity of plant extracts from plants such as Molle (*Schinus molle* L) and Marco (*Ambrosia arborescens* Miller) against a phytopathogen *Phytophthora infestans* responsible for causing late blight in the kidney tomato fruit. In which, as a first step, the plant species were collected in the Zuleta commune, Ibarra canton, Imbabura province, the two plant species went through a dehydration process in order to obtain a total extract through a process called dynamic maceration and to This was done using a solvent called methanol at various serial concentrations that are 500, 250,125 and 62.5 mg/ml with the help of the Kirby-Bauer methodology, performing direct diffusion in agar on the previously isolated phytopathogenic agent *Phytophthora infestans*. Currently, plant extracts have been evaluated for several crops, among these studies is the kidney tomato crop. The great diversity of plants that our biodiversity offers us is a source of bioactive compounds for obtaining potential natural extracts that strengthen the organic control of diseases in tree tomato cultivation.

Keywords: *Phytophthora infestans*; *Schinus molle* L; *Ambrosia arborescens* Miller; vegetable extracts; late blight.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Existen varios patógenos que llegan a afectar al fruto del tomate riñón entre ellos *Phytophthora infestans*, principal agente causal de la enfermedad del tizón tardío, la enfermedad es causada por abundantes precipitaciones y humedad relativa en el ambiente llegando a causar daños principalmente en los frutos, afecta mayoritaria a la epidermis del fruto provocando que la calidad del producto disminuya, además de verse afectada la calidad y cantidad de la cosecha, se llega a reducir la productividad de la planta y afectar su salud, provocando una disminución en la resistencia de la planta a enfermedades y plagas, reducir el valor comercial de la cosecha y afectar los precios de los productos (Julián & Molano, 2006).

Para Andrade (2021), la producción de tomate riñón se enfrenta a numerosos desafíos, entre ellos, el tizón tardío, una enfermedad causada por el patógeno *Phytophthora infestans*, el tizón tardío es una de las enfermedades más devastadoras del tomate riñón, con el potencial de causar pérdidas significativas en los rendimientos y la calidad de los frutos. Este patógeno puede infectar todas las partes de la planta de tomate riñón, incluyendo hojas, tallos y frutos, causando manchas foliares características, pudrición de frutos y, en casos severos, la defoliación completa de la planta.

Ante esta problemática, en la actualidad los extractos vegetales que son una alternativa natural y amigable con el medio ambiente, estos pueden llegar a aumentar la resistencia de la planta de tomate riñón y a su vez poder combatir enfermedades y plagas que son lo que comúnmente ataca al cultivo. Los extractos vegetales son obtenidos a partir de plantas que contienen principios activos como ácidos fenólicos, flavonoides, ligninas, terpenos, etc. Estos principios activos presentan propiedades antimicrobianas, antifúngicas y antioxidantes que ayudan a prevenir la infección y el daño de las plantas. Los extractos vegetales pueden estimular el crecimiento y desarrollo de las plantas, aumentar la resistencia al estrés y mejorar la calidad y rendimiento de los frutos, siendo útiles para controlar la infestación de insectos y aumentar la resistencia a enfermedades.

En los últimos años, ha habido un creciente interés en el uso de extractos vegetales como alternativa a los productos químicos sintéticos en la agricultura. Esto se debe a su capacidad para proporcionar una serie de beneficios, que van desde fortalecer la resistencia de las plantas contra enfermedades y plagas hasta mejorar la fertilidad del suelo y reducir el impacto ambiental negativo de la agricultura convencional. (Correa, 2019).

Según Tobar (2019), los extractos vegetales han emergido como una herramienta prometedora en la agricultura debido a su capacidad para mejorar la salud de las plantas y promover prácticas agrícolas más sostenibles y respetuosas con el medio ambiente. Estos extractos, derivados de una amplia variedad de plantas, contienen una rica diversidad de compuestos bioactivos que pueden beneficiar tanto a las plantas como al entorno en el que crecen.

CAPÍTULO II

OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de extractos totales de dos especies vegetales frente a uno de los hongos patógenos causales de tizón tardío (*Phytophthora infestans*) en tomate riñón.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar el rendimiento de los extractos totales de dos especies vegetales por medio de un solvente orgánico.
- Caracterizar molecularmente el hongo (*Phytophthora infestans*) causal de tizón tardío en tomate riñón.
- Evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de los extractos totales a través de ensayos de bioactividad.

2.3. Hipótesis

Hipótesis Alternativa (Ha): El extracto total de las dos especies vegetales presentan actividad antifúngica

Hipótesis Nula (Ho): Ninguno de los dos extractos presentan actividad antifúngica.

CAPÍTULO III

ESTADO DEL ARTE

3.1. Extractos Vegetales

En condiciones *in vitro* los extractos vegetales llegan a inhibir en el crecimiento del patógeno, de tal manera que hace más fácil el control de enfermedades de hortalizas y frutos, los estudios que se han llegado a realizar con extractos vegetales han sido escasos tanto en aspectos moleculares, bioquímicos y morfológicos tanto del hospedero como del patógeno (Niurka et al., 2007).

El estudio de Rodríguez y Martínez (2021), sobre la evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales contra *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate, en el cual se evidenció el potencial de los extractos vegetales como una alternativa prometedora para controlar las enfermedades causadas por *Fusarium oxysporum*, obteniendo como resultado que los extractos vegetales podrían utilizarse como agentes antifúngicos naturales y seguros para el control de patógenos en la agricultura, ofreciendo una opción más sostenible y respetuosa con el medio ambiente en comparación con los fungicidas químicos tradicionales.

Estos extractos vegetales se caracterizan por tener metabolitos secundarios los cuales forman parte de las estrategias de defensa que la planta necesita y estos a su vez pueden ser agrupados en compuestos nitrogenados, terpenoides y fenólicos estos hacen que los extractos lleguen a ser antivirales, antifúngicos, antimicrobianos, inhibidores de germinación los cuales permiten proteger el cultivo de cualquier plaga o enfermedad (Celis et al., 2019).

Para Pérez (2019), los extractos vegetales tienen un gran potencial proteger los cultivos de hortalizas contra plagas y enfermedades, además resalta la necesidad de realizar más investigaciones para optimizar las formulaciones y métodos de aplicación de los extractos vegetales, así como para evaluar su seguridad y eficacia a largo plazo en diferentes sistemas de cultivo.

3.2 Propiedades de los extractos vegetales.

Los extractos vegetales poseen propiedades antifúngicas los cuales presentan una variedad de compuestos químicos que actúan de diversas maneras para combatir hongos. Estos compuestos pueden afectar la membrana celular del hongo, interferir con su metabolismo, inhibir su crecimiento o incluso causar la muerte celular. A continuación, se describen algunas de las estructuras y mecanismos comunes que pueden encontrarse en los extractos vegetales con actividad antifúngica (Rincón, 2014).

- **Componentes lipofílicos:** Muchos extractos vegetales contienen compuestos lipofílicos, como terpenoides y ácidos grasos insaturados, que pueden interactuar con los lípidos de la membrana celular del hongo. Esto puede provocar la disrupción de la integridad de la membrana y la fuga de componentes celulares, lo que eventualmente conduce a la muerte celular (Rincón, 2014).
- **Polifenoles:** Los polifenoles son compuestos que se encuentran en muchas plantas y tienen propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Algunos polifenoles, como las catequinas y los flavonoides, pueden interferir con las enzimas y procesos metabólicos dentro del hongo, lo que interrumpe su crecimiento y supervivencia (Rincón, 2014).
- **Alcaloides:** Los alcaloides son compuestos nitrogenados que se encuentran en algunas plantas y tienen una amplia variedad de efectos biológicos. Algunos alcaloides, como la berberina, la noscapina y la colchicina, tienen actividad antifúngica al interferir con la replicación del ADN o afectar la función de las enzimas cruciales para el metabolismo del hongo (Rincón, 2014).
- **Saponinas:** Las saponinas son compuestos que tienen propiedades tensioactivas y se encuentran en muchas plantas. Pueden interactuar con la membrana celular del hongo, causando su disrupción y aumentando la permeabilidad, lo que lleva a la pérdida de componentes celulares y eventualmente a la muerte celular (Rincón, 2014).
- **Compuestos aromáticos:** Algunos extractos vegetales contienen compuestos aromáticos, como fenoles y terpenos, que pueden tener propiedades antifúngicas. Estos compuestos pueden interferir con la síntesis de la pared celular del hongo o afectar la función de las enzimas esenciales para su supervivencia (Rincón, 2014).

3.3 Obtención de extractos

3.3.1. Extracción Mecánica.

Se realiza por expresión la cual se basa en ejercer presión sobre una especie o materia vegetal tratar y poder así obtener un jugo para poder obtener los principios activos que se requieran o también se puede realizar mediante cortes para así poder obtener fluidos de la planta (Osorio, 2009).

3.3.2. Destilación.

Se basa en tener material vegetal molido y proceder a colocar en una cámara que sea de acero inoxidable de manera que este logre circular. La destilación se basa en la diferenciación de los puntos de ebullición de los componentes presentes en la muestra, permitiendo la separación de los compuestos volátiles de los no volátiles (Pérez, 2009).

3.3.3. Extracción con fluidos supercríticos.

Se basa en tener material vegetal molido y proceder a colocar en una cámara que sea de acero inoxidable de manera que este logre circular. Es una técnica de separación y purificación que utiliza fluidos supercríticos, como dióxido de carbono (CO₂) en condiciones supercríticas, para extraer componentes específicos de una muestra (Pérez, 2009).

3.3.4. Extracción con solventes.

Este proceso implica el uso de un solvente para disolver selectivamente los compuestos de interés de la mezcla original. Obtener principios activos de una especie vegetal cuando se encuentre en contacto con un solvente o mezcla para así poder solubilizar dichos principios (Pérez, 2009).

González y Enríquez (2020), realizaron un estudio sobre optimización de la extracción con solventes de compuestos antifúngicos de plantas medicinales para el control de enfermedades fúngicas en cultivos, en el cual los resultados mostraron que la elección del solvente y las condiciones de extracción tuvieron un impacto significativo en el rendimiento de extracción y la actividad antifúngica de los extractos vegetales, además se observaron diferencias en la eficacia antifúngica de los extractos obtenidos con diferentes solventes, siendo algunos más efectivos que otros para inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos.

3.4. Especies Vegetales en estudio.

3.4.1. Especie Vegetal *Schinus molle* L.

El Molle, conocido científicamente como *Schinus molle* L, es un árbol originario de América del Sur que se encuentra comúnmente en países como Ecuador, así como en otros países de la región, como Perú, Chile, Argentina y Bolivia. El Molle es un árbol de hoja perenne que puede crecer hasta 15 metros de altura. Tiene una copa amplia y ramificada, con ramas colgantes y follaje denso. Sus hojas son compuestas y lanceoladas, de color verde brillante (De La Torre et al., 2014).

Se encuentra distribuido en varias regiones del país, especialmente en zonas secas y semisecas de la costa, sierra y oriente ecuatoriano. Puede encontrarse tanto en áreas silvestres como en áreas urbanas. En Ecuador, el Molle ha sido utilizado tradicionalmente con diversos fines. Sus frutos son consumidos frescos y también son utilizados para la elaboración de bebidas alcohólicas como la chicha. Las hojas y la corteza del árbol tienen propiedades medicinales y se utilizan para tratar diversas afecciones, como problemas digestivos y respiratorios (De La Torre et al., 2014).

Figura 1
Schinus molle L.



3.4.2. Actividad biológica de la especie vegetal en estudio.

Posee varias actividades biológicas debido a los compuestos químicos presentes en sus partes, como hojas, frutos, corteza y semillas. El Molle ha sido utilizado en la medicina

tradicional de diversas culturas sudamericanas debido a sus propiedades medicinales. Se le atribuyen propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antimicrobianas, analgésicas y antivirales (Rincón, 2014).

Investigaciones han demostrado que extractos de diferentes partes de *Schinus molle* L poseen actividad antimicrobiana contra una variedad de bacterias y hongos patógenos. Estos efectos pueden ser útiles en el tratamiento de infecciones bacterianas y fúngicas (Rincón, 2014)

3.4.3. Especie Vegetal *Ambrosia arborescens* Miller

Ambrosia arborescens Miller es una planta herbácea perenne que crece hasta una altura de aproximadamente 1 metro, presenta tallos erectos y ramificados, con hojas alternas, lanceoladas y dentadas. Las flores son pequeñas, de color amarillo verdoso, dispuestas en inflorescencias terminales. Se encuentra principalmente en las regiones tropicales y subtropicales de América del Sur, incluyendo Ecuador. Puede encontrarse en una variedad de hábitats, como bordes de caminos, campos agrícolas, áreas perturbadas y márgenes de bosques (González, 2004).

Esta planta se llega a reproducir principalmente por semillas, las cuales son dispersadas por el viento. Es una especie que puede crecer rápidamente y colonizar áreas perturbadas. Sus flores producen abundante polen, lo que puede causar alergias en algunas personas (González, 2004).

Figura 2

Ambrosia arborescens Miller.



3.4.4. Actividad biológica de la especie vegetal en estudio.

Existe evidencia científica que respalde el uso de *Ambrosia arborescens* Miller como un agente de control de hongos. De hecho, *Ambrosia arborescens* Miller es más conocida por sus efectos alérgicos y su potencial invasivo en algunas regiones, en lugar de ser reconocida por sus propiedades fungicidas. La mayoría de las investigaciones relacionadas con *Ambrosia arborescens* Miller se centran en su polen alérgico y su capacidad invasora (González, 2004).

3.5. *Phytophthora infestans*.

Para González (2022), el impacto del tizón tardío causado por *Phytophthora infestans* conlleva un sinnúmero de desventajas en la producción de tomate riñón ya que este patógeno tiene una rápida propagación durante períodos de alta humedad y temperaturas moderadas, esta enfermedad afecta tanto a la cantidad como a la calidad de los frutos, resultando en una disminución del rendimiento y una menor comercialización de los mismos en el mercado debido a su aspecto y sabor los cuales se ven comprometidos. Además, se identificaron costos adicionales asociados a la implementación de medidas de control, como la aplicación de fungicidas y prácticas de manejo cultural, lo que aumentó los costos de producción para los agricultores.

Es una especie de oomiceto, un tipo de organismo microscópico que se asemeja a los hongos pero que está más estrechamente relacionado con las algas pardas. Es una de las enfermedades más destructivas que afectan a los cultivos de papa y tomate en todo el mundo y puede causar pérdidas significativas en la producción si no se controla adecuadamente, además es un patógeno de plantas que causa una enfermedad conocida como tizón tardío o mildiú de la papa y del tomate (De La Torre et al., 2014).

El ciclo de vida de *Phytophthora infestans* incluye dos fases: una fase asexual, en la que produce esporangios y zoosporas que son liberadas y pueden infectar las plantas vecinas, y una fase sexual, que ocurre en condiciones de alta humedad, donde se forman estructuras de resistencia llamadas oosporas que pueden sobrevivir durante largos períodos en el suelo y en los restos de plantas infectadas. Se dispersa principalmente a través del agua, ya sea por salpicaduras

de lluvia o riego, así como por el viento, que puede transportar las esporas a largas distancias. También puede ser transportado en material vegetal infectado (De La Torre et al., 2014).

3.5.1. Propagación de *Phytophthora infestans*.

Se propaga principalmente a través de diferentes formas de esporas (zoosporas) que son liberadas al medio ambiente y pueden dispersarse a través del agua, el viento, el movimiento humano y los vectores biológicos (Bhagariya y Prajapati, 2019).

Son estructuras de reproducción sexual que se producen en las oosporas, que son esféricas y resistentes a condiciones adversas. Los espermatios pueden fusionarse con los óvulos de las oosporas en condiciones de alta humedad para formar nuevas oosporas, lo que contribuye a la supervivencia y propagación del patógeno (Bhagariya y Prajapati, 2019).

3.5.2. Síntomas.

Inicialmente, se pueden observar pequeñas manchas de color verde oscuro en las hojas de las plantas infectadas. Estas manchas suelen aparecer en el borde de las hojas y pueden expandirse rápidamente, conforme la infección avanza, las manchas foliares se agrandan y las hojas comienzan a marchitarse y volverse amarillentas. Esto puede provocar un rápido deterioro de las hojas, especialmente en condiciones de alta humedad (Martínez, et al., 2017).

En etapas avanzadas de la enfermedad, el tizón tardío puede causar la descomposición del tallo de la planta, lo que conduce a la caída prematura de las hojas y los frutos. Los frutos infectados pueden desarrollar manchas marrones o negras, volverse blandos y pudrirse. En algunos casos, *Phytophthora infestans* puede infectar las raíces de las plantas, causando síntomas de pudrición y debilitamiento del sistema radicular (Martínez, et al., 2017).

3.5.3. Morfología.

Phytophthora infestans tiene una morfología característica que incluye varias estructuras que son importantes para su ciclo de vida y propagación.

- **Esporangio:** Es una estructura de reproducción asexual que se encuentra en la parte superior de un esporangióforo, un tallo delgado y erecto. Los esporangios contienen

numerosas zoosporas, que son esporas móviles que se liberan cuando las condiciones son favorables (Jeewon, et al., 2002).

- **Zoosporas:** Son esporas móviles que se forman dentro de los esporangios. Las zoosporas tienen un flagelo que les permite moverse en el agua y son importantes para la dispersión y la infección de las plantas huésped (Jeewon, et al., 2002).
- **Oospora:** Es una estructura de reproducción sexual que se forma en condiciones de alta humedad. Las oosporas son esféricas y resistentes y pueden sobrevivir en el suelo y en restos de plantas infectadas durante largos períodos, lo que contribuye a la supervivencia y propagación del patógeno (Jeewon, et al., 2002).
- **Micelio:** Es la parte del cuerpo del hongo que consiste en filamentos delgados y ramificados llamados hifas. El micelio de *Phytophthora infestans* puede crecer en el suelo, en el tejido de la planta huésped y en otros sustratos orgánicos (Jeewon, et al., 2002).
- **Haustorios:** Son estructuras especializadas que se forman en las hifas del patógeno y que penetran en las células de la planta huésped para obtener nutrientes. Los haustorios son importantes para el establecimiento y la propagación de la infección en el tejido de la planta (Jeewon, et al., 2002).
- **Espermatios:** Son células sexuales masculinas que se forman en las estructuras de reproducción sexual de *Phytophthora infestans*. Los espermatios pueden fusionarse con los óvulos de las oosporas para formar nuevas oosporas, completando el ciclo de reproducción sexual del patógeno (Jeewon, et al., 2002).

3.5.4 Evaluación de la eficacia de extractos vegetales contra el hongo *Phytophthora infestans*

Se refiere a un proceso de investigación en el que se estudia la capacidad de ciertos extractos obtenidos de plantas para combatir el hongo *Phytophthora infestans*.

- **Evaluación de la eficacia:** Implica determinar qué tan efectivos son los extractos vegetales en la supresión del crecimiento o la propagación del hongo *Phytophthora infestans*, esto puede implicar pruebas de laboratorio, pruebas en campo o una combinación de ambas para medir la eficacia de los extractos.

- **Extractos vegetales:** Estos compuestos pueden ser extraídos de diferentes partes de la planta, como las hojas, las raíces, los tallos o las semillas. Los extractos vegetales pueden contener una variedad de compuestos activos, como polifenoles, terpenoides, alcaloides, entre otros, que pueden tener propiedades antifúngicas.
- **Hongo *Phytophthora infestans*:** La evaluación de la eficacia de los extractos vegetales se enfoca en determinar si estos pueden inhibir el crecimiento o la propagación de este hongo, lo que podría conducir a estrategias de control más sostenibles y respetuosas con el medio ambiente.

Para Velastegui (2022), varios extractos vegetales presentan una actividad antifúngica significativa contra *Phytophthora infestans*, tanto in vitro como en condiciones de campo. Se observa una reducción notable en la incidencia y severidad del tizón tardío en las plantas tratadas con extractos vegetales, comparable e incluso superior a la de los fungicidas químicos convencionales. Además, se identifican posibles mecanismos de acción, como la inhibición del crecimiento micelial y la alteración de la estructura de la membrana celular del hongo.

3.6. Impacto ambiental y económico del uso de extractos vegetales.

Los extractos vegetales suelen ser considerados como una alternativa más sostenible a los pesticidas químicos sintéticos, ya que son biodegradables y menos tóxicos para el medio ambiente. Esto puede reducir la acumulación de residuos químicos en el suelo, el agua, entre otros, sin embargo, es importante considerar el impacto en la biodiversidad local. Algunos extractos vegetales pueden afectar a especies no objetivo, como insectos beneficiosos o polinizadores, si se utilizan de manera indiscriminada o en altas concentraciones.

En términos económicos, el uso de extractos vegetales puede representar una alternativa más económica en comparación con los pesticidas químicos, esto se debe a que los ingredientes para hacer los extractos vegetales pueden ser más baratos y están disponibles localmente en comparación con los productos químicos importados. Además, la producción de extractos vegetales puede requerir menos insumos y procesos complejos, lo que puede reducir los costos laborales y de energía.

Según Fernández y Tobar (2021), indican que el uso de extractos vegetales puede mejorar la salud del suelo al promover la actividad microbiana y la retención de nutrientes. Además, se observa un impacto positivo en la biodiversidad, con un aumento en la diversidad de insectos polinizadores y una menor incidencia de especies no objetivo afectadas por los extractos vegetales.

Para Cabrera (2009), recalca la importancia de adoptar un enfoque integral para evaluar el impacto ambiental y económico del uso de extractos vegetales en la agricultura. Si se implementan de manera adecuada y sostenible, los extractos vegetales pueden desempeñar un papel crucial en la transición hacia prácticas agrícolas más sostenibles y resilientes en el futuro. Sin embargo, se necesitan más investigaciones y políticas de apoyo para maximizar los beneficios y minimizar los riesgos asociados con su uso.

3.7. Importancia del Cultivo de Tomate Riñón (*Solanum lycopersicum* L.)

El cultivo de tomate riñón (*Solanum lycopersicum* L.) es significativo en Ecuador por varias razones, destacando su importancia en la economía, la alimentación y la generación de empleo. El cultivo de tomate riñón representa una parte significativa de la economía agrícola en Ecuador. La producción a gran escala y la comercialización de estos tomates contribuyen al ingreso de los agricultores y al desarrollo económico de las regiones dedicadas a su cultivo. Ecuador tiene la capacidad de exportar productos agrícolas, incluyendo tomates riñón, a mercados internacionales. La calidad de los tomates cultivados en el país puede abrir oportunidades para la exportación, generando divisas y fortaleciendo la posición económica del país en el comercio internacional (Flores et al., 2021).

El tomate riñón es conocido como una hortaliza de gran importante debido a que está presente en la dieta de la población ecuatoriana, por ende, beneficiando a la economía del país; aportando con el 0.6 % al Valor Agregado Bruto Agropecuario. En la actualidad, el tomate se siembra en una superficie de 1,886 hectáreas, representando el 0.2 % de la superficie sembrada bajo cultivos transitorios; con una producción de 52 mil toneladas a escala nacional. Chimborazo es una de las principales provincias con mayor potencial, cuyo aporte es del 31.9 %, en segundo lugar, Cotopaxi con un aporte de 26.1 %. Esta producción conforma Unidades

de Producción Agropecuaria con una superficie menor a 1 hectárea, representando el 92 % del total nacional, concentradas en las provincias de Chimborazo y Cotopaxi, principalmente. Y el 60 % de la oferta laboral, el cual está conformado por personas productoras y/o familiares. De esta hortaliza se realizan importaciones como pasta, salsa y tomate en conserva para así poder abastecer la demanda doméstica de productos derivados del mismo dando así una suma de USD 13.4 millones (8,218 t); es importante conocer que los principales proveedores son Perú, Chile, Italia y Estados Unidos. A nivel mundial (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2023)

Según García y Rodríguez (2018), destacaron la importancia del cultivo de tomate riñón en Ecuador desde una perspectiva socioeconómica, siendo así uno de los cultivos hortícolas más importantes del país, con una gran demanda tanto en el mercado interno como en los mercados internacionales, especialmente en Estados Unidos y otros países de América del Sur. La producción de tomate riñón genera empleo e ingresos para miles de agricultores y contribuye significativamente a la economía nacional. Sin embargo, se identificaron varios desafíos y áreas de mejora, como la necesidad de aumentar la productividad y la calidad del cultivo, mejorar las prácticas de manejo postcosecha y fortalecer los sistemas de comercialización y exportación para garantizar la competitividad en los mercados internacionales.

3.7.1. Origen.

El tomate riñón, también conocido como tomate pera, es una variedad específica de tomate (*Solanum lycopersicum* L) que pertenece a la familia Solanaceae. Los tomates en general son originarios de América del Sur, específicamente de la región que abarca desde el oeste de Ecuador hasta el norte de Chile (Elena et al., 2008).

Los antiguos habitantes de América, como los aztecas y los incas, ya cultivaban y consumían diferentes variedades de tomates mucho antes de la llegada de los europeos al continente. Los tomates fueron llevados a Europa después del contacto con América en el siglo XV, y desde allí se dispersaron por todo el mundo (Elena et al., 2008).

La variante específica conocida como tomate riñón o tomate pera ha sido seleccionada y desarrollada a lo largo del tiempo a través de la agricultura y la hibridación selectiva para obtener sus características particulares, como su forma alargada y su sabor distintivo (Elena et al., 2008).

En términos de la historia del tomate riñón, como variante específica de tomate, no hay una fecha o lugar de origen precisa establecido, ya que su desarrollo ha sido gradual a lo largo de la evolución agrícola y las prácticas de cultivo de tomates en general. La variedad de formas y tamaños de los tomates ha sido el resultado de la selección artificial y el cruce de diferentes variedades a lo largo de los siglos (Elena et al., 2008).

3.7.2. Taxonomía.

Tabla 1

Clasificación taxonómica de Solanum lycopersicum.

Detalle	Descripción
Nombre Común	Tomate, jitomate, tomatara
Nombre Científico	<i>Solanum lycopersicum</i>
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclases	<u>Asteridae</u>
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Genero	Solanum
Especie	<i>Solanum lycopersicum</i>

Extraído de Flores et al., 2021.

3.6.3. Características del Tomate Riñón.

- **Forma y Tamaño**

La característica más evidente del tomate riñón es que presenta una forma alargada y ovalada, la cual se llega a asemejar a un riñón o a una pera. Tiene una base más ancha y se estrecha hacia la parte superior. (Mejía, 2011).

- **Color**

Los tomates riñón suelen tener un color rojo brillante cuando están maduros, aunque algunas variedades pueden tener tonalidades ligeramente diferentes, como naranja o amarillo. La madurez y el color de los tomates riñón pasan por varias etapas, y el cambio de color es un indicador clave de la madurez. (Murillo, 2013).

- **Sabor**

El tomate riñón suele tener un sabor dulce y jugoso. Su pulpa es carnososa y contiene menos semillas en comparación con otras variedades de tomates, lo que lo hace popular para diversas preparaciones culinarias y por ende llega a ser más comercial (Mejía, 2021).

- **Textura de la Piel**

La piel del tomate riñón es generalmente suave y delgada, lo que facilita su manipulación y consumo. La piel puede ser ligeramente más gruesa en comparación con otras variedades de tomates, pero sigue siendo bastante fina. (Murillo, 2013).

CAPÍTULO IV

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Materiales

4.1.1. Equipos de laboratorio

- Molino de cuchillas Retsch modelo GM 200
- Estufa BioBase modelo BJPX-Spring
- Plato agitador magnético MSH-30D WiseStir
- Rotavapor Buchi Rotavapor R-215
- Ultrasonido Wise Clean
- Cámara de flujo laminar (N-Biotek)
- Autoclave vertical (N-Biotek modelo: NB-1080)
- Balanza analítica (ADAM modelo: PW 254)

4.1.2. Materiales de laboratorio

- Matraz de Erlenmeyer
- Balón aforado
- Papel filtro
- Cajas Petri
- Hisopos estériles
- Frasco boeco
- Tubos de ensayo con tapa rosca
- Asa bacteriológica
- Porta objetos
- Micro pipetas
- Puntas

4.1.3. Reactivos

- Agar Sabouraud (SDA)
- Metanol $\geq 99.9\%$

- Agua destilada
- Alcohol 70 %

4.2. Métodos

4.2.1. Recolección de la especie vegetal

La presente investigación se realizó en los laboratorios de la PUCE-I, cantón Ibarra provincia de Imbabura, las especies vegetales *Schinus molle* L. y *Ambrosia arborescens* Miller fueron recolectadas en la comuna Zuleta, perteneciente al cantón Ibarra en la provincia de Imbabura.

La decisión de estudiar las especies vegetales *Schinus molle* L. y *Ambrosia arborescens* Miller se debe ya que se conoce por revisión de literatura que dichas especies presentan una actividad biológica en hongos, de las especies vegetales se obtuvieron muestras de 45 cm de longitud de ramas terminales como hojas y flores, con la ayuda del GPS se procedió a georreferenciar el lugar de recolección de las especies vegetales.

Una vez ya obtenidas las muestras de las dos especies vegetales se las trasladó al Herbario de la PUCE-I, donde se las desinfectó y se procedió a etiquetarlas para ser colocadas directamente en bolsas de papel las cuales servirán específicamente para la obtención del extracto (Ruano, 2020).

Las muestras restantes de cada especie vegetal tienen la finalidad de quedar registradas como ejemplares de Herbario y para ello tuvieron un proceso de desinfección utilizando alcohol al 70%, después se las colocó en papel periódico y encima de las muestras papel absorbente de cocina y por último estas muestras fueron colocadas en tablas de madera que debían ser ajustadas (Ruano, 2020).

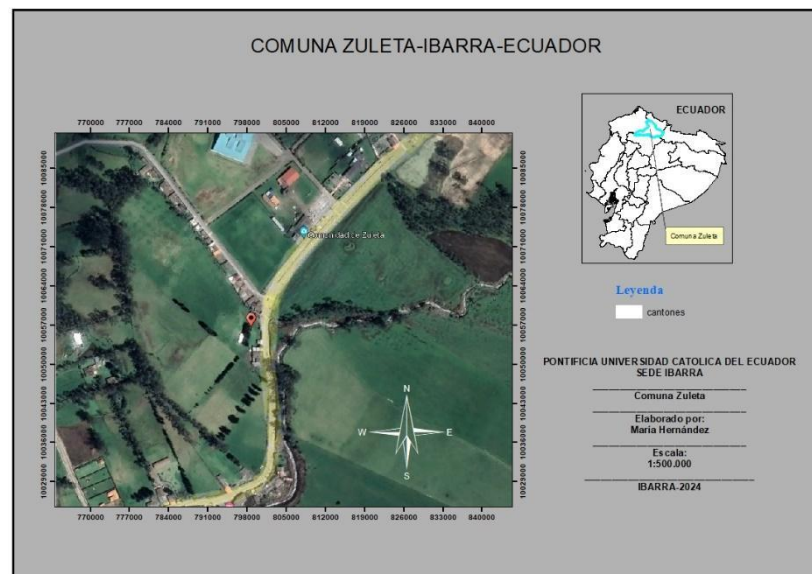
Las muestras botánicas de las dos especies vegetales que se encuentran en el Herbario de la PUCE-I, fueron deshidratadas por el tiempo de 2 horas a una temperatura de 50°C, esto se realiza con la finalidad de poder identificar taxonómicamente las dos especies vegetales *Schinus molle* L. y *Ambrosia arborescens* Miller, utilizando una clave dicotómica.

Las muestras vegetales de las especies *Schinus molle* L. y *Ambrosia arborescens* Miller, que fueron utilizadas para poder obtener el extractos total, tuvieron que seguir un protocolo que consiste en realizar una limpieza manual esto se realiza con la finalidad de poder eliminar las partes dañadas de la planta y material que no pertenezca a la misma, se procedió a recolectar solo las partes aéreas que fueron colocadas en cajas de papel para seguir con el proceso de deshidratación con la ayuda de una cámara de secado la cual debe tener flujo de aire, este procedimiento se lo debe realizar durante 96 horas a una temperatura máxima de 50°C (Ruano, 2020).

4.2.2. Recolección e identificación taxonómica de especie vegetal

Las muestras de *Schinus molle* L. y *Ambrosia arborescens* Miller fueron recolectadas de la comuna Zuleta perteneciente al cantón Ibarra provincia de Imbabura.

Figura 3
Mapa en donde se obtuvo la especie vegetal.



En la Figura 3 se puede observar en donde se realizó la recolección de las dos especies vegetales y también las coordenadas de georreferenciación tanto para la recolección de la

especie *Schinus molle* L y para *Ambrosia arborescens* Miller que se detallan a continuación en la Tabla 2.

Tabla 2

Área de colecta de la especie Schinus molle L y Ambrosia arborescens Miller

Nombre común	Familia	Especie	Altitud	Lugar de recolección	Coordenadas UTM
Molle, salsa pimienta, mulli, árbol de la vida	Anacardiaceae	<i>Schinus molle</i> L.	2,977 m	Comuna Zuleta cantón Ibarra, provincia Imbabura	19N 7811151 E22524
Marco	Asteraceae	<i>Ambrosia arborescens</i> Miller.	2,977m	Comuna Zuleta cantón Ibarra, provincia Imbabura	22N 7807151 E25524

4.2.3. Obtención del extracto total.

Para llevar a cabo el proceso de obtención de extracto total de las dos especies vegetales se siguió el protocolo propuesto por (Ordóñez et al., 2023).

Una vez que las muestras de las especies vegetales han cumplido con el tiempo de deshidratación durante 96 horas, continúa con un proceso de trituración, las especies son colocados en un mortero previamente esterilizado y luego fueron colocados en un molino de

cuchillas Retsch modelo GM 200 con la finalidad de que todas las muestras queden trituradas por completo, estas a su vez fueron coladas en bolsas de papel para poder pesarlas y rotularlas, para seguir con el paso de obtención del extracto total de las dos especies vegetales se utilizó un método de maceración dinámica eligiendo al metanol como solvente orgánico debido a que este presenta una baja selectividad llegando así a extraer más compuestos de las especies vegetales (Ordóñez et al., 2023).

Con el fin de obtener el extracto total, se pesó una muestra de 41 g de *Ambrosia arborescens* Miller y 62g de *Schinus molle* L, fueron colocadas en un matraz, agregando una proporción de 1:10 relación (peso/volumen), para ello las muestras vegetales se colocaron en un agitador magnético a 800 rpm durante un tiempo de 24 horas a temperatura ambiente (Ruano, 2020). Transcurrido el tiempo, se filtró al vacío con la finalidad de poder separar el solvente del sólido, conservando el solvente, el sólido remanente fue utilizado para realizar dos extracciones seguidas siguiendo los mismos pasos de la primera extracción, una vez obtenido la mezcla de los tres sobrenadantes se procede a evaporar con la ayuda de un rota vapor a una temperatura de 40 °C hasta conseguir la evaporación total del solvente, dando como resultado un concentrado sólido que es el extracto total de interés de las dos especies vegetales, las cuales fueron almacenadas en un frasco ámbar para su debido uso (Ordóñez et al., 2023).

Para obtener el rendimiento del extracto total se usó la ecuación 1, representada en porcentaje % con relación al peso de materia seca.

Ecuación 1

Porcentaje de rendimiento

$$\%rendimiento = \frac{\text{gramos de extracto seco}}{\text{gramos de la muestra}} \times 100$$

Figura 4
Obtención del extracto



4.2.4. Aislamiento del hongo *Phytophthora infestans*, aislado del fruto enfermo del tomate riñón *Solanum lycopersicum*

Para el aislamiento del patógeno *Phytophthora infestans* se siguió el protocolo propuesto por (Celis et al., 2019).

- Se deben lavar los frutos enfermos con agua destilada esterilizada y se debe dejar secar dentro de una cámara de flujo laminar.
- Se procede a tomar partes enfermas producto de tizón tardío las cuales no deben tener más de 3mm de diámetro.
- El tejido es desinfectado por un tiempo máximo de 90 segundos en una solución de hipoclorito al 2% y su vez de debe realizar un lavado de 30 segundos con agua destilada esterilizada.
- El tejido fue sumergido en alcohol al 70% por un tiempo de 60 segundos y también se lo debe lavar con agua esterilizada por 30 segundos aproximadamente, este tejido deber ser secado con papel filtro esterilizado.

- Se procede a sembrar en cajas Petri con el medio de cultivo Sabouraud Dextrose Agar (SDA).
- Las cajas Petri deben ser incubadas a una temperatura de 25°C las cuales deben estar en oscuridad revisándolas en intervalos de 24 horas, para poder evidenciar el crecimiento del micelio. Cuando ya se pueda observar el micelio, se procede a transferir en nuevas cajas Petri las cuales contienen SDA para obtener cultivos puros. Se vuelve a incubar a 25°C en condiciones de oscuridad durante aproximadamente 4 semanas.

Figura 5

Aislamiento de Phytophthora infestans



4.2.5. Caracterización morfológica del hongo *Phytophthora infestans*, aislado de frutos enfermos de tomate riñón *Solanum lycopersicum*

La caracterización morfológica del patógeno *Phytophthora infestans* se consiguió siguiendo el protocolo propuesto por (Celis et al., 2019).

- Recolección de Muestras para ello deben ser obtenidas de cultivos infectados, tejido vegetal enfermo o aisladas de medios de cultivo.
- Preparación de Muestras para Microscopía Óptica:
- Se debe colocar una pequeña porción de la muestra sobre un portaobjetos limpio y proceder a cubrir la muestra con un cubreobjetos.

- Si es necesario, se debe agregar una gota de azul de metileno para mejorar la visualización de las estructuras fúngicas.
- Se debe colocar el portaobjetos preparado en el microscopio óptico.
- Para ello se debe comenzar con baja magnificación (10x o 20x) para localizar las estructuras generales del patógeno.
- Luego, se procede a aumentar la magnificación (40x o 100x) para observar detalles más finos, como esporangios, zoosporas, hifas y estructuras de reproducción.
- Por último, se toman notas detalladas de las características morfológicas observadas, como tamaño, forma, color, textura y disposición de las estructuras fúngicas.
-

4.2.6. Caracterización molecular del hongo *Phytophthora infestans*, aislado de frutos enfermos de tomate riñón *Solanum lycopersicum*

La caracterización molecular del patógeno *Phytophthora infestans* se consiguió siguiendo el protocolo propuesto por (Celis et al., 2019).

- Para la extracción y purificación de ADN se debió cultivar el hongo en medio LB hasta la fase logarítmica. (En muchos casos se puede utilizar el cultivo nocturno).
- Se centrifugó no más de 3 ml de cultivo o 1×10^8 células a 4000 x g durante 10 minutos a temperatura ambiente, se aspiró y desechó los medios.
- Se añadió 100 μ L de tampón TE Buffer. Vortex para resuspender completamente el pellet.
- Se agregó 10 μ L de lisozima resuspendida con tampón de elución, se incubó a 37°C durante 10 minutos. Es necesario modificar la cantidad de enzima requerida y/o la duración de la incubación dependiendo del hongo ya que un tiempo prolongado puede producir mejores resultados.
- Se evaluó la integridad y calidad del ADN con la ayuda de espectrofotometría de micro volúmenes y visualización en gel de agarosa.
- Se diluyó el ADN obtenido a una concentración de 20ng/ μ L aproximadamente para la amplificación mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

- Se utilizó dos primers universales ITS1/ITS4 para la amplificación del ADN de los aislados fúngicos.
- Los productos de PCR deben ser purificados para obtener la secuenciación por el método SANGER.
- Una vez ya que se obtuvieron las secuencias estas deben ser limpiadas y ensambladas usando programas bioinformáticos.
- Para finalizar se procede a comparar las secuencias ensambladas con la base de datos de nucleótidos de GenBank del NCBI.

4.3. Diseño experimental

Para la presente investigación se utilizó el diseño experimental completamente al azar (DCA).

4.3.1. Unidad experimental

Las unidades experimentales tanto para *Schinus molle* L. y *Ambrosia arborescens* Miller son en total cuarenta y dos, tres repeticiones de cada concentración, del producto comercial, del solvente orgánico y del testigo absoluto.

La unidad experimental corresponde a una caja Petri en cual se colocará el agar SDA más el agente patógeno.

4.3.2. Tratamientos

Aquí se utiliza un total de siete tratamientos, en donde 4 pertenecen a concentraciones de los extractos vegetales tanto de *Schinus molle* L. y *Ambrosia arborescens* Miller, realizando diluciones seriadas 500, 250, 125 y 62,5 mg/mL, añadiendo un producto químico Metiram, un solvente orgánico Metanol y un testigo absoluto.

Tabla 3

Tratamientos a evaluar

Tratamientos	Concentraciones
T1	concentración 500 mg/mL
T2	concentración 250 mg/mL
T3	concentración 125 mg/mL
T4	concentración 62,5 mg/mL
T5	testigo absoluto
T6	control positivo (Metiram 8mg/mL)
T7	solvente orgánico (metanol)

Nota: Las concentraciones con las que se trabajó en la presente investigación fueron tomadas según las investigadas por (Ordóñez et al., 2023), con la finalidad de poder replicar las mismas y realizar una comparación.

Variables

Variable/s Independiente/s

La concentración del extracto vegetal.

Variable/s dependiente/s

- **Crecimiento diario del patógeno**

Se procedió a calcular el crecimiento diario del hongo cada 24 horas, esto se lo debe realizar hasta que el micelio del tratamiento testigo cubra toda la superficie de la caja Petri, para las medidas del radio de la colonia dentro de las cajas Petri se las debe tomar en 4 direcciones (Norte, Sur, Este y Oeste) de las cuales se promediará los datos.

El crecimiento diario se calculó con la siguiente formula, (Ordóñez et al., 2023)

Ecuación 2

Crecimiento diario

$$T_c = \frac{C_f - C_i}{T_f - T_i}$$

C_f: Crecimiento final en cm

C_i: Crecimiento inicial en cm

T_f: Tiempo final en donde termina el crecimiento

T_i: Tiempo inicial donde inicia el crecimiento

- **Evaluación de la actividad antifúngica *in vitro* de extractos totales de dos especies vegetales tanto de la familia Anacardiaceae y de la familia Asteraceae mediante ensayos de actividad biológica.**

Para realizar la evaluación antifúngica *in vitro* de la especie vegetal, se sembró el patógeno *Phytophthora infestans* en caja Petri con medio de cultivo SDA, se utilizó discos de papel filtro de 6mm de diámetro impregnados con el extracto total de *Schinus molle* L y *Ambrosia arborescens* Miller a concentraciones de 500 mg/mL, 250 mg/mL, 125 mg/mL y 62,5 mg/mL con tres repeticiones de cada una, se tomó datos cada 24 horas durante 7 días, debido a que el hongo necesita de este tiempo para poder cubrir con totalidad la caja Petri y así poder evidenciar con exactitud si el extracto presenta efectos fungicidas o fungistáticos.

El porcentaje de inhibición para el hongo *Phytophthora infestans* se consiguió con la fórmula propuesta por (Ordóñez et al., 2023)

$$\text{Porcentaje de inhibición} = \frac{dc - dt}{dc} * 100$$

dc= promedio del crecimiento del hongo

dt= promedio de crecimiento del hongo con los tratamientos.

CAPÍTULO V

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Obtención del extracto total de las especies vegetales.

Se procedió a obtener un extracto metanólico de la especie vegetal *Schinus molle* L que como resultado se obtuvo un rendimiento de 47,29% expresado en porcentaje, partiendo de 62g de materia vegetal seca y de la misma manera para la especie vegetal *Ambrosia arborescens* Miller en el cual se obtuvo un rendimiento de 34,83% para poder obtener este rendimiento se utilizó la ecuación 1 (Ruano, 2022), el cual los valores se pueden evidenciar en la Tabla 4.

Tabla 4

Porcentaje de rendimiento del extracto total de la especie vegetal Schinus molle L.

Especie vegetal	Materia vegetal deshidratada (g)	Extracto seco (g)	Porcentaje de rendimiento (%)
<i>Schinus molle</i> L.	62g	29,32	47,29%
<i>Ambrosia arborescens</i> Miller	41g	14,28	34,83%

Del extracto total de las dos especies vegetales tanto de *Schinus molle* L y *Ambrosia arborescens* Miller se procedió a obtener las concentraciones seriadas del extracto de cada especie, se realizó la primera concentración (500mg/mL) en cual se tomó 500 mg de extracto vegetal y se añadió 1 mL de metanol, para la segunda concentración (250mg/mL) se tomó de la primera concentración 0,5mL y se añadió 0,5 mL de Metanol, para la tercera concentración (125mg/mL) se tomó 0,5mL de la segunda concentración y se añadió 0,5 mL de Metanol y

para la ultima concentración (62,5mg/mL) se tomó 0,5mL de la tercera concentración y se añadió 0,5 mL de Metanol.

5.2. Caracterización del hongo *Phytophthora infestans*.

5.2.1. Aislamiento del hongo *Phytophthora infestans*.

Los frutos enfermos del tomate riñón (Anexo 5) se obtuvieron de la comuna Zuleta, cantón Ibarra provincia de Imbabura, en el cual se usó el protocolo establecido de Ruano Pérez (2022)., este protocolo es detallado con exactitud en el apartado 4.2.4., de manera que así se pueda lograr el aislamiento del hongo *Phytophthora infestans*.

Figura 6

*Aislamiento de *Phytophthora infestans*.*



En la Figura 6 se puede observar el crecimiento micelial al tercer día después de la siembra en el medio de cultivo SDA, sin ningún tipo de contaminación y por consiguiente se realizó la siembra de hifas obteniendo cultivos puros en el medio de cultivo SDA de esta manera se puede seguir con la caracterización molecular y posterior uso en la evaluación antifúngica *in vitro*.

Figura 7

Cultivo Puro de Phytophthora infestans.



En la Figura 7 se puede observar el aislamiento puro del agente etiológico *Phytophthora infestans*, al séptimo día de siembra este fue el tiempo que tomó el agente etiológico en cubrir la caja Petri por completo, se puede observar con claridad que el agente etiológico tiene un color blanquecino de aspecto algodonoso.

Para Montufar (2022), la caracterización detallada de *Phytophthora infestans*, en cajas Petri proporciona información valiosa para la identificación precisa y el estudio de este patógeno en entornos de laboratorio, presenta un micelio acuoso y algodonoso de color blanquecino, además se observa un patrón de crecimiento radial a partir del punto de inoculación, con una textura gelatinosa en condiciones de alta humedad, lo que en sí concuerda con los resultados obtenidos en esta investigación por presentar las mismas características.

5.2.2. Caracterización morfológica.

Después de tener las placas con colonias de incubación a $25\pm 1^\circ\text{C}$ en el medio de cultivo SDA del cual fueron obtenidos los cultivos puros, se procedió a realizar la caracterización morfológica de *Phytophthora infestans*, para ello el color de la colonia fue evaluado por la parte frontal y posterior de la caja Petri.

Figura 8

Caracterización morfológica de Phytophthora infestans A. Parte frontal de la colonia B. Parte posterior de la colonia

A.



B.



En la Figura 8 A se puede observar la parte frontal de la caja Petri con el medio de cultivo SDA, en donde se pueden distinguir los colores blanquecinos de textura algodonosa, mientras que en la figura 8 B se puede observar la vista posterior de la caja Petri y en esta se observan colores amarillos pardos hasta tonalidades oscuras, esta caracterización morfológica realizada en la presente investigación concuerda con los resultados obtenidos de (Celis et al., 2019).

5.2.3. Caracterización molecular.

Una vez aislado y caracterizado el hongo se procedió a enviar una muestra a los laboratorios de la PUCE Quito, con la finalidad de realizar la caracterización molecular.

En los resultados entregados por la PUCE Quito, la caracterización se la realizó mediante reacción PCR en donde se visualizó fragmentos de aproximadamente 600pb en las muestras amplificadas haciendo uso de primers ITS1/ITS4 para hongos, obteniendo como resultado que el hongo aislado es *Phytophthora infestans* con un 98,05% de similitud, el cual se puede observar en la Tabla 5.

Tabla 5

Evidencia de caracterización molecular del hongo Phytophthora infestans

Microorganismo	Similitud	Número de accesión	Base de datos
<i>Phytophthora infestans</i>	98.05%	ON705717.1	NCBI

Resultado válido únicamente para la muestra analizada

Elaborado por Laboratorios PUCE-Quito

5.3. Crecimiento diario del hongo *Phytophthora infestans*

El crecimiento diario del hongo *Phytophthora infestans* se realizó con la finalidad de mostrar en que tiempo el hongo cubre la totalidad de la caja Petri.

Tabla 6

Crecimiento diario de Phytophthora infestans.

Especie en estudio	Día	Valores de crecimiento (cm/día)	Tasa Crecimiento diario (cm/día)
<i>Phytophthora infestans.</i>	1	0,51	
	2	2,17	1,04
	3	3,91	0,86
	4	5,36	0,67
	5	6,11	0,63
	6	6,73	0,64
	7	7,37	0,7

En la Tabla 5 se puede apreciar que el hongo *Phytophthora infestans* cubrió la totalidad de la caja Petri en los 7 días, esto indica que el hongo tiene un crecimiento acelerado.

Para Méndez y Huertas (2021), *Phytophthora infestans* exhibe una alta tasa de crecimiento y propagación, favorecida por condiciones ambientales propicias, particularmente la disponibilidad de nutrientes adecuados y un entorno húmedo. La investigación tiene como objetivo principal la identificación de las condiciones óptimas que favorecen el crecimiento acelerado de este hongo en cajas Petri, así como la comprensión detallada de los factores determinantes que influyen en su desarrollo rápido en un entorno de laboratorio, considerando que las cajas Petri ofrecen un ambiente experimental altamente controlado y proporcionan sustratos nutritivos para el cultivo de microorganismos, es razonable suponer que bajo ciertas

condiciones, *Phytophthora infestans* podría alcanzar un desarrollo completo en un lapso de tiempo tan breve como siete días.

5.4. Análisis estadístico de las variables

5.4.1. Prueba de normalidad y homogeneidad de la varianza.

Se realizó una prueba de normalidad de *Shapiro-Wilk* para procesar los datos obtenidos en la investigación bajo un ($p\text{-value} > 0,05$), de la variable crecimiento de *Phytophthora infestans* con el extracto de *Schinus molle* L. y *Ambrosia arborescens* Miller (Tabla 7).

Tabla 7

Prueba de normalidad y homogeneidad de la varianza.

Especie	Variable	Observaciones	Promedio	Desviación Estándar	Shapiro test	p-valor
<i>Schinus molle</i> L	Crecimiento de <i>Phytophthora infestans</i>	21	0	0,45	0,93	<0,0001
<i>Ambrosia arborescens</i> Miller	Crecimiento de <i>Phytophthora infestans</i>	21	0	0,45	0,93	<0,0001

Nota: Shapiro-Wilk p-value >0,05; los datos tienen una distribución normal.

5.4.2. Crecimiento de *Phytophthora infestans* con el extracto vegetal *Schinus molle* L.

En la (Tabla 8), se observa el crecimiento de *Phytophthora infestans* con el extracto vegetal *Schinus molle* L, en el cual hay diferencias significativas entre tratamientos con las diferentes concentraciones ($p < 0,0001$). El coeficiente de variación para este estudio es de 10,92% dando objetividad a esta investigación con la variabilidad de datos obtenidas en la misma.

Tabla 8

*Análisis de la varianza para crecimiento de *Phytophthora infestans* con el extracto vegetal *Schinus molle* L.*

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	86,28	6	14,38	48,74	< 0,0001
Error	4,13	14	0,30		
Total	90,41	20			

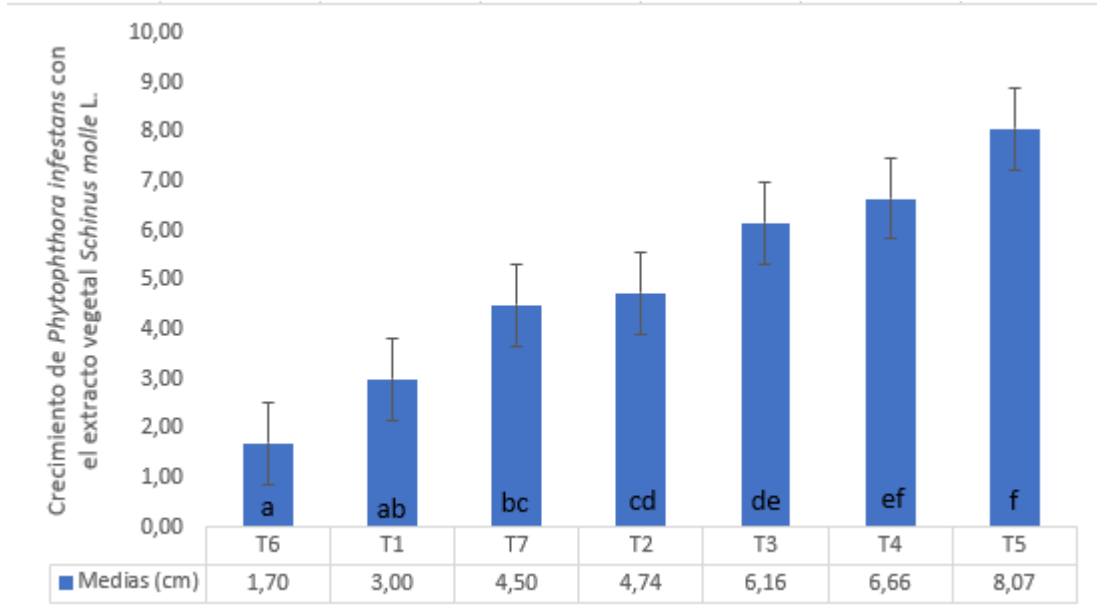
C.V.	10,92 %
------	---------

Nota: F.V: Fuentes de variación, SC: Suma de cuadrados gl.: Grados de libertad, CM: Cuadrado Medio, F: valor de F calculado, p-valor: valor de significación.

En la (Figura 9), se muestran siete grupos para crecimiento de *Phytophthora infestans* con el extracto vegetal *Schinus molle* L. El tratamiento (T6) presentó un menor crecimiento con una media de 1,7cm perteneciendo al grupo **a**), en comparación al tratamiento (T5) el cual obtuvo un mayor crecimiento con una media de 8,07cm correspondiendo al grupo **f**).

Figura 9

*Prueba de significancia Tukey al 5% crecimiento de *Phytophthora infestans* con el extracto vegetal de *Schinus molle* L*



Nota: T1 (500mg/mL), T2 (250mg/mL), T3(125mg/mL), T4(62,5mg/mL), T5(testigo absoluto), T6(control químico), T7(solvente).

En esta investigación, se observó que el crecimiento del patógeno *Phytophthora infestans* en el tratamiento (T6) fue menor debido a que se aplicó un control químico utilizando el ingrediente activo Metiram a una concentración de 8 mg/mL. La observación se realizó al séptimo día de la siembra. Este resultado concuerda con los hallazgos reportados por (Agrocalidad, 2022) en relación con las buenas prácticas agrícolas para el cultivo de tomate riñón que señala que el uso de Metiram como antifúngico para el control del agente etiológico *Phytophthora infestans* ha demostrado eficacia en la reducción del crecimiento del patógeno.

El estudio realizado por Díaz (2020) sugiere que una mayor concentración de extracto vegetal, y dependiendo de la actividad biológica que presente la especie vegetal, se puede tener un efecto inhibitor sobre el crecimiento tanto de hongos como de bacterias. En este estudio específico, se empleó una concentración de 500 mg/mL de extracto vegetal para detener el crecimiento de *Phytophthora infestans*, un patógeno que afecta a la papa, en el cual dio como resultado una disminución del crecimiento. Los resultados de este estudio son consistentes con los obtenidos en la investigación actual, donde se utilizó la misma concentración de extracto vegetal para inhibir el crecimiento de *Phytophthora infestans* en el fruto de tomate riñón.

5.4.3. Crecimiento de *Phytophthora infestans* con el extracto vegetal *Ambrosia arborescens* Miller

En la (Tabla 9), se observa el crecimiento de *Phytophthora infestans* con el extracto vegetal *Ambrosia arborescens* Miller, en el cual hay diferencias significativas entre tratamientos con las diferentes concentraciones ($p < 0,0001$). El coeficiente de variación para este estudio es de 15,73% dando objetividad a esta investigación con la variabilidad de datos obtenidas en la misma.

Tabla 9

Análisis de la varianza para crecimiento de Phytophthora infestans con el extracto vegetal Ambrosia arborescens Miller.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)						
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
TRATAMIENTO	79,03	6	13,27	28,95	< 0,0001	
Error	6,42	14	0,46			
Total	86,05	20				
<hr/>						
C.V.	15,73%					

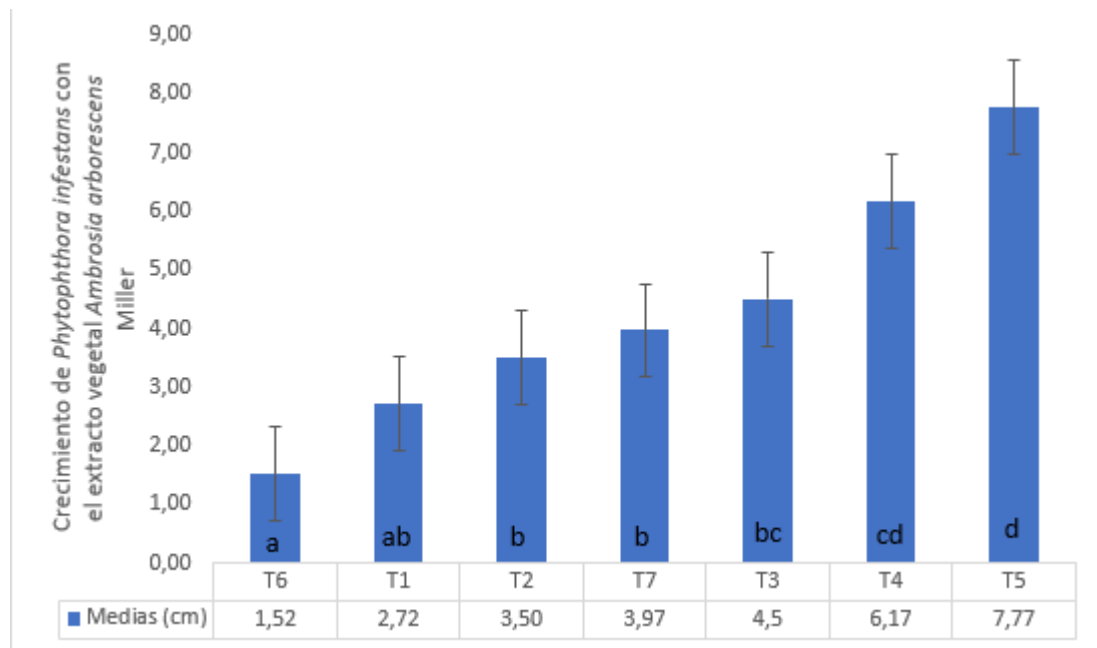
Nota: F.V: Fuentes de variación, SC: Suma de cuadrados gl.: Grados de libertad, CM: Cuadrado Medio, F: valor de F calculado, p-valor: valor de significación.

El estudio realizado por Vargas (2007), en la inoculación de *Phytophthora infestans* en hojas de papa *Solanum tuberosum* bajo condiciones controladas, sugiere que al último día el comportamiento del hongo en laboratorio indica que sus coeficientes de variación pasaron de principio (3,49%) al fin (17,67%) debido a que las muestras inoculadas no tuvieron mayor afectación; esta investigación concuerda con los datos mencionados, ya que el coeficiente de variación en el crecimiento de *Phytophthora infestans* con el extracto vegetal *Ambrosia arborescens* Miller al séptimo día fue de 15,73% bajo condiciones controladas aseverando que estudios agrícolas en campo y en condiciones controladas el coeficiente de variación debe ser menor al 30% para sostener que este tipo de estudios son confiables.

En la (Figura 10), se muestran siete grupos para crecimiento de *Phytophthora infestans* con el extracto vegetal *Ambrosia arborescens* Miller. El tratamiento (T6) presentó un menor crecimiento con una media de 1,52 cm perteneciendo al grupo **a**), en comparación al tratamiento (T5) el cual obtuvo un mayor crecimiento con una media de 7,77 cm correspondiendo al grupo **d**).

Figura 10

Prueba de significancia Tukey al 5% crecimiento de *Phytophthora infestans* con el extracto vegetal *Ambrosia arborescens* Miller.



Nota: T1 (500mg/mL), T2 (250mg/mL), T3(125mg/mL), T4(62,5mg/mL), T5(testigo absoluto), T6(control químico), T7(solvente).

En esta investigación, se observó que el crecimiento del patógeno *Phytophthora infestans* en el tratamiento (T6) fue menor debido a que se aplicó un control químico utilizando el ingrediente activo Metiram a una concentración de 8 mg/mL. La observación se realizó al séptimo día de la siembra. Este resultado concuerda con los hallazgos reportados por (Agrocalidad, 2022) en relación con las buenas prácticas agrícolas para el cultivo de tomate

riñón que señala que el uso de Metiram como antifúngico para el control del agente etiológico *Phytophthora infestans* ha demostrado eficacia en la reducción del crecimiento del patógeno.

Rodríguez (2020), afirma que utilizar la mayor concentración de extracto vegetal, puede tener un efecto inhibitor sobre el crecimiento de hongos. En este estudio se observó que las concentraciones más altas de extractos vegetales (500 y 250 mg/mL) tuvieron un efecto significativo en la inhibición del crecimiento de *Phytophthora infestans*, mientras que las concentraciones más bajas (125, 62.5 y 31.25 mg/mL) mostraron una inhibición gradualmente menor, sin embargo, incluso las concentraciones más bajas exhibieron cierto grado de efecto inhibitorio en comparación con el control sin extracto vegetal. Los resultados que se obtuvieron en esta investigación concuerdan con los obtenidos en el presente estudio, donde se aplicó las mismas concentraciones de extracto vegetal para inhibir el crecimiento de *Phytophthora infestans* en el fruto de tomate riñón.

5.5 Evaluación antifúngica *in vitro* de las especies vegetales *Schinus molle* L y *Ambrosia arborescens* Miller.

Se realizó una prueba de normalidad de *Shapiro-Wilk* para procesar los datos obtenidos en la investigación bajo un (p-value >0,05), de la variable porcentaje de inhibición de *Phytophthora infestans* con el extracto de *Schinus molle* L. y *Ambrosia arborescens* Miller (Tabla 10).

Tabla 10
Prueba de normalidad y homogeneidad de la varianza.

Especie	Variable	Observaciones	Promedio	Desviación Estándar	Shapiro test	p-valor
<i>Schinus molle</i> L	% de Inhibición de <i>Phytophthora infestans</i>	21	0	0,95	0,92	<0,0001

<i>Ambrosia</i>						
<i>arborescens</i>	% de Inhibición de <i>Phytophthora infestans</i>	21	0	1,17	0,97	<0,0001
Miller						

Nota: Shapiro-Wilk p -value >0,05; los datos tienen una distribución normal.

5.5.1. Porcentaje de inhibición de *Phytophthora infestans* con el extracto vegetal *Schinus molle* L.

En la (Tabla 11), se observa el porcentaje de inhibición de *Phytophthora infestans* con el extracto vegetal *Schinus molle* L, en el cual hay diferencias significativas entre tratamientos con las diferentes concentraciones ($p < 0,0001$). El coeficiente de variación para este estudio es de 1,67% dando objetividad a esta investigación con la variabilidad de datos obtenidas en la misma.

Tabla 11

Análisis de la varianza para crecimiento de *Phytophthora infestans* con el extracto vegetal *Schinus molle* L.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)						
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
TRATAMIENTO	436,08	3	13,27	115,93	< 0,0001	
Error	10,03	8	0,46			
Total	446,11	11				

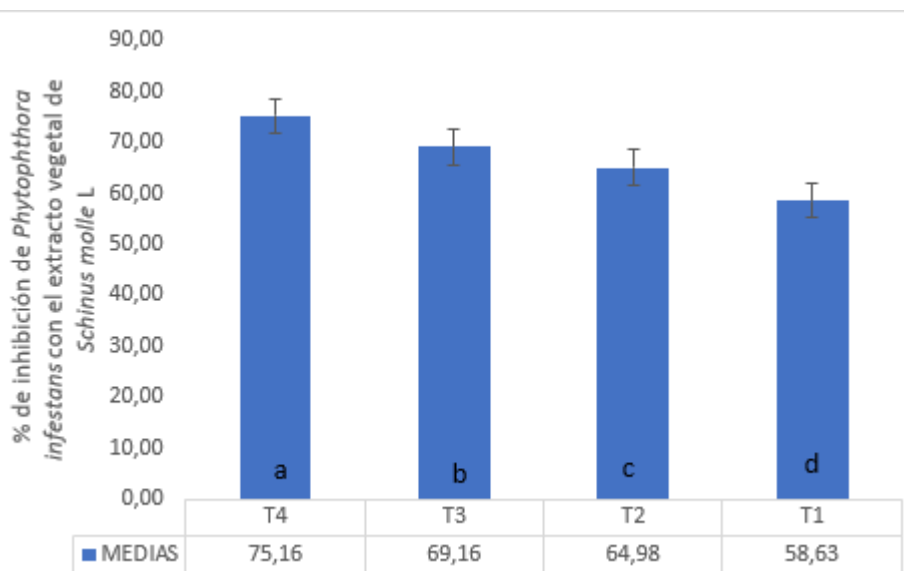
C.V.	1,67%
------	-------

Nota: F.V: Fuentes de variación, SC: Suma de cuadrados gl.: Grados de libertad, CM: Cuadrado Medio, F: valor de F calculado, p-valor: valor de significación.

En la (Figura 11), se muestran cuatro grupos para crecimiento de *Phytophthora infestans* con el extracto vegetal *Ambrosia arborescens* Miller. El tratamiento (T4) presentó un mayor porcentaje de inhibición con una media de 75,16 cm perteneciendo al grupo **a**), en comparación al tratamiento (T1) el cual obtuvo un menor porcentaje de inhibición con una media de 58,63 cm correspondiendo al grupo **d**).

Figura 11

Prueba de significancia Tukey al 5% porcentaje de inhibición de *Phytophthora infestans* con el extracto vegetal de *Schinus molle* L



Nota: T4: 500mg/mL, T3: 250 mg/mL, T2: 125mg/mL y T1: 62,5mg/mL,

Se probaron cinco concentraciones 500mg/mL, 250 mg/mL, 125mg/mL y 62,5mg/mL, en el cual el extracto *Schinus molle* L. mostró actividad fúngica contra el patógeno *Phytophthora infestans*, la concentración más alta 500mg/mL resultó presentar un porcentaje de inhibición del 75,16%; y una menor inhibición con la concentración 62,5mg/mL del 58,63%.

En esta investigación, se observó que todas las concentraciones de extractos vegetales, así como el control solvente, mostraron un porcentaje de inhibición en el crecimiento del hongo *Phytophthora infestans*, a medida que aumenta la concentración de los extractos vegetales, se observaba un mayor porcentaje de inhibición del hongo. Esto sugiere que los extractos vegetales tienen un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Phytophthora infestans*, y que este efecto es dosis-dependiente, es decir, cuanto mayor es la concentración del extracto, mayor es la inhibición del hongo, además se observó que el control positivo, que consistió en el ingrediente activo Metiram a una concentración de 8 mg/mL, mostró una inhibición más rápida del hongo en comparación con las concentraciones de extractos vegetales. Esto indica que el Metiram es

más efectivo para inhibir el crecimiento del hongo en menor tiempo en comparación con los extractos vegetales utilizados en el estudio, por otro lado, el control negativo, que no recibió tratamiento alguno, no mostró inhibición y permitió que el hongo creciera normalmente. Esto sugiere que, sin tratamiento, el hongo pudo desarrollarse sin restricciones en las condiciones del experimento, lo que hace referencia al estudio realizado por Ordoñez et al (2023), los extractos *P. prostrata* y *R. roseus* en las concentraciones 500mg/mL, 250 mg/mL, 125mg/mL, 62,5mg/mL, y 31,25mg/mL mostraron inhibición contra *Phytophthora infestans*, resultando el extracto *R. roseus* más activo contra *Phytophthora infestans*. Esto coincide con los resultados obtenidos en esta investigación en el cual los extractos vegetales si presentaron porcentajes de inhibición.

5.5.2. Porcentaje de inhibición de *Phytophthora infestans* con el extracto vegetal *Ambrosia arborescens* Miller

En la (Tabla 12), se observa el porcentaje de inhibición de *Phytophthora infestans* con el extracto vegetal *Ambrosia arborescens* Miller en el cual hay diferencias significativas entre tratamientos con las diferentes concentraciones ($p < 0,0001$). El coeficiente de variación para este estudio es de 2,07 % dando objetividad a esta investigación con la variabilidad de datos obtenidas en la misma.

Tabla 12

Análisis de la varianza para crecimiento de Phytophthora infestans con el extracto vegetal Ambrosia arborescens Miller

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	228,99	3	76,03	40,49	< 0,0001
Error	15,08	8	1,89		
Total	244,07	11			

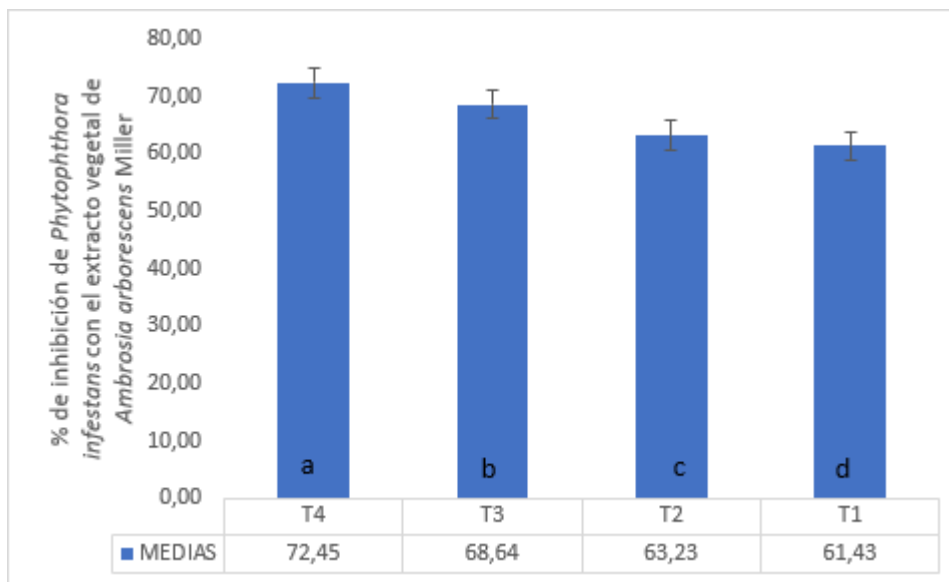
C.V.	2,07%
------	-------

Nota: F.V: Fuentes de variación, SC: Suma de cuadrados gl.: Grados de libertad, CM: Cuadrado Medio, F: valor de F calculado, p-valor: valor de significación.

En la (Figura 12), se muestran cuatro grupos para crecimiento de *Phytophthora infestans* con el extracto vegetal *Ambrosia arborescens* Miller. El tratamiento (T4) presentó un mayor porcentaje de inhibición con una media de 72,45 cm perteneciendo al grupo **a**), en comparación al tratamiento (T1) el cual obtuvo un menor porcentaje de inhibición con una media de 61,43 cm correspondiendo al grupo **d**).

Figura 12

Prueba de significancia Tukey al 5% porcentaje de inhibición de Phytophthora infestans con el extracto vegetal de Ambrosia arborescens Miller



Nota: T4: 500mg/mL, T3: 250 mg/mL, T2: 125mg/mL y T1: 62,5mg/mL,

De las cuatro concentraciones que son 500mg/mL, 250 mg/mL, 125mg/mL y 62,5mg/mL las cuales fueron del extracto *Ambrosia arborescens* Miller, dio como resultado actividad fúngica contra el patógeno *Phytophthora infestans*, en el cual la concentración más alta 500mg/mL resultado presentar un porcentaje de inhibición del 72,45%; y una menor inhibición con la concentración 62,5mg/mL del 61,43%.

Según Lima (2020), diferentes concentraciones de extractos vegetales tienen efectos variables en la supresión de la inhibición de patógenos agrícolas. Se observa una tendencia hacia una mayor inhibición con concentraciones más altas de extractos vegetales, aunque algunas

concentraciones bajas también pueden tener efectos significativos, de esta manera los resultados obtenidos en esta investigación concuerdan con lo dicho anteriormente que entre concentraciones mas altas existirá un mayor porcentaje de inhibición.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

- Mediante el método de maceración dinámica usando metanol como solvente, se logró determinar un rendimiento del 47,29 % de la especie *Schinus molle* L y un 34,83% en la especie *Ambrosia arborescens* Miller, ya que se sabe que el metanol es un solvente polar el cual ayuda extraer con facilidad moléculas con mayor grado de polaridad.
- Para poder aislar el hongo *Phytophthora infestans* se debió seleccionar frutos enfermos de tomate riñón *Solanum lycopersicum*, que presenten tizón tardío.
- Se caracterizó morfológicamente y molecularmente al hongo *Phytophthora infestans* demostrando así que el agente etiológico en estudio si es el correcto.
- Las cuatro concentraciones 500 mg/mL, 250 mg/mL, 125 mg/ml y 62,5 mg/mL que fueron evaluadas de la especie vegetal *Schinus molle* L se observó que detuvo el crecimiento del hongo y a su vez mostraron inhibición contra el agente etiológico *Phytophthora infestans*, en 500 mg/mL (75,16%), 250 mg/mL(69,16%) ,125 mg/ml (64,98%) y 62,5 mg/mL(58,63%).
- Las cuatro concentraciones 500 mg/mL, 250 mg/mL, 125 mg/ml y 62,5 mg/mL que fueron evaluadas de la especie vegetal *Ambrosia arborescens* Miller se observó que detuvo el crecimiento del hongo y a su vez mostraron inhibición contra el agente etiológico *Phytophthora infestans*, en 500 mg/mL (72,45 %), 250 mg/mL(68,64 %) ,125 mg/ml (63,23 %) y 62,5 mg/mL(61,43 %).

CAPÍTULO VII

RECOMENDACIONES

- Evaluar nuevas especies vegetales, mismas que pueden presentar inhibición del crecimiento del hongo *Phytophthora infestans* con la finalidad de poder reemplazar fungicidas sintéticos, los cuales generan resistencia de cepas y contaminación al medio ambiente.
- Utilizar métodos naturales de control de plagas, como los extractos vegetales, puede ayudar a preservar la biodiversidad, esto incluye no dañar a los insectos benéficos y otros organismos que son importantes para el equilibrio del ecosistema.
- Antes de utilizar cualquier extracto vegetal, investiga y familiarízate con sus propiedades, aplicaciones y dosis recomendadas. No todos los extractos vegetales son efectivos para controlar todos los tipos de plagas o enfermedades.

CAPÍTULO VIII

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Celis, A., Mendoza, C. F., y Pachón, M. E. (2009). Uso de extractos vegetales en el manejo integrado de plagas, enfermedades y arvenses: revisión. *Temas agrarios*, 14(1), 5-16. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3206597.pdf>
- Correa Juárez, M. (2019). Identificación molecular y caracterización morfológica de *Sphaceloma perseae* en la franja tomatera de Michoacán. http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/handle/DGB_UMICH/2081
- Darapanit, A., Boonyuen, N., Leesutthiphonchai, W., Nuankaew, S., & Piasai, O. (2021). Identification, pathogenicity and effects of plant extracts on *Neopestalotiopsis* and *Pseudopestalotiopsis* causing fruit diseases. *Scientific Reports 2021 11:1*, 11(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02113-5>
- De La Torre, L., Muriel, P., & Balslev, H. (2014). *Etnobotánica en los Andes del Ecuador*. 246–267. https://www.researchgate.net/profile/Priscilla_Muriel/publication/228584502_Etnobotanica_en_los_Andes_del_Ecuador/links/0deec51dfe775411db000000/Etnobotanica-en-los-Andes-del-Ecuador.pdf
- Flores, J. J. Á., Cevallos, H. V., Montealegre, V. J. G., y Romero, H. C. (2021). Análisis de la producción de tomate riñón en el Ecuador y su exportación a mercados internacionales en el periodo 2008 al 2018. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 4(S1), 164-172. <http://remca.umet.edu.ec/index.php/REMCA/article/view/424>
- González Villa, Á. A. (2004). Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas. *Ingeniería Química*. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/2800>
- Mejía Pallo, J. P. (2021). *Determinación del porcentaje de aceite de cuatro variedades de tomate riñón (Persea americana) en el sector Las Viñas* [Tesis de Grado, Universidad Técnica de Ambato] <http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/31946>
- Molano, P. J. T. (2007). Enfermedades de tomate riñón. *Revista politécnica*, 3(4), 51-70. <http://revistas.elpoli.edu.co/index.php/pol/article/view/62>
- Murillo, M. (2013). *Estudio de Factibilidad para la Producción y Comercialización de Aceite de Tomate Riñón en la ciudad de Guayaquil* [Tesis de Grado, Universidad Católica de Santiago de

Guayaquil]. <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/1583/1/T-UCSG-PRE-ECO-ADM-58.pdf>

Lauzardo, A. N. H., Baños, S. B., y Del Valle, M. G. V. (2007). Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(2), 119-123. <https://www.redalyc.org/pdf/610/61030202.pdf>

Ordóñez, Y. F., Ruano, J., Avila, P., Berutti, L., Guerrero, P. C., & Ordóñez, P. E. (2023a). In Vitro Antimicrobial Activity of Plant Species against the Phytopathogens *Ralstonia solanacearum*, *Phytophthora infestans*, and *Neopestalotiopsis javaensis*. *Agriculture (Switzerland)*, 13(10). <https://doi.org/10.3390/agriculture13102029>

Osorio, E., y Edison, J. (2009). Aspectos básicos de farmacognosia. *Facultad de Química Farmacéutica de la Universidad de Antioquia*. <https://dokumen.tips/documents/aspectos-basicos-de-farmacognosia.html?page=1>

Cabrera Arévalo, J. L. (2009). *Obtención de extractos vegetales con actividad biocontroladora ante hongos fitopatógenos* [Tesis de Grado, Universidad del Azuay]. <https://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/575>.

Rivero-Guerra, A. O. (2020). Diversidad y distribución de los endemismos de Asteraceae (Compositae) en la Flora del Ecuador. *Collectanea Botanica*, 39, e001-e001. <https://doi.org/10.3989/COLLECTBOT.2020.V39.001>

Santana Mayorga, R. C. (2014). *Evaluación de métodos de extracción y dosis de aplicación de cola de caballo (Equisetum arvense) para el control ecológico de roya (Puccinia sp.) en el cultivo de la cebolla blanca (Allium fistulosum)* [Tesis de Maestría, Universidad Técnica de Ambato]. <http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/7557>

Selles, E., Sánchez, J., Solán, C., Suiñe, J., y Tico, J. (1992). Tratado de Farmacia Galénica. *SL SALAZAR Macián Ramón. Madrid*. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16149/1/UPS-QT13324.pdf>

Taroco, R., Seija, V., y Vignoli, R. (2006). Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. *Temas de Bacteriología y Virología Médica, Oficina del libro FEFMUR, Uruguay*, 36(1), 665-668. <https://www.academia.edu/download/39779542/MorfologiayEstructuraBacteriana-1.pdf>

Tovar, M. E. G., Fernández, A. M. A., Aguilar, N. O., González, J. M., Espinosa, H. E. L., y Torres, I. L. Origen y Domesticación del Tomate Riñón (*Solanum lycopersicum*) EN MESOAMÉRICA. <https://www.uv.mx/personal/megalindo/files/2010/07/PD2.pdf>

Velasteguí Sánchez, R. (2005). Alternativas ecológicas para el manejo integrado fitosanitario en los cultivos. <https://biblioteca.uazuay.edu.ec/buscar/item/54328>

Ordóñez, Y. F., Ruano, J., Avila, P., Berutti, L., Guerrero, P. C., & Ordóñez, P. E. (2023a). In Vitro Antimicrobial Activity of Plant Species against the Phytopathogens *Ralstonia solanacearum*, *Phytophthora infestans*, and *Neopestalotiopsis javaensis*. *Agriculture (Switzerland)*, *13*(10). <https://doi.org/10.3390/agriculture13102029>

ANEXOS

Anexo 1

Recolección y limpieza de las especies vegetales.



Anexo 2

Selección de especies para montaje



Anexo 3

Prensado de los ejemplares del montaje para su secado



Anexo 4

Triturado de las especies vegetales en estudio para su secado



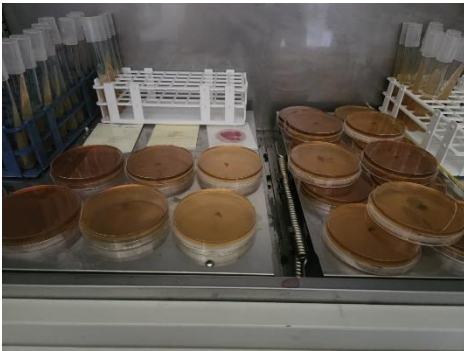
Anexo 5

Selección de frutos de tomate riñón con lesiones



Anexo 6

Siembra de lesiones de tomate riñón en el medio de cultivo SDA

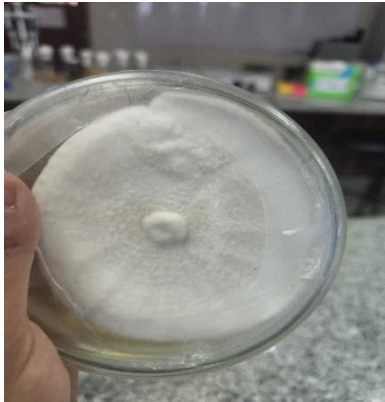


Anexo 7

Crecimiento micelial en el medio de cultivo SDA



Anexo 8
Cultivo puro de Phytophthora infestans



Anexo 9
Muestras Maceradas de Ambrosia arborescens Miller y Schinus molle L.



Anexo 10

*Filtrado de las muestras de *Ambrosia arborescens* Miller y *Schinus molle* L*



Anexo 11

Muestra en el rotavapor para evaporar el solvente metanol



Anexo 12

Extracto total obtenido de las dos especies vegetales



Anexo 13

Elaboración de la concentración máxima del extracto



Anexo 14

Concentraciones de Schinus molle



Anexo 15
Concentraciones de Ambrosia arborescens Miller



Anexo 16
Identificación Molecular

INFORME DE RESULTADOS

Código de la muestra: PS-SI

DATOS INFORMATIVOS

Solicitante: Yadira Ordóñez, Ph.D.
Teléfono: 0985741212

Fecha de ingreso de la muestra: N.A.
Fecha de ejecución del ensayo: N.A
Fecha de reporte del resultado: 31/01/2024

ENSAYOS SOLICITADOS

- **PT-LFCB-001:** Identificación molecular de un microorganismo

Tipo de muestra: Colonia fúngica en medio no descrito.

Características de la muestra: Ejemplar perteneciente al género *Phytophthora* por identificación morfológica.

RESULTADOS

Cebador: ITS1

Secuencia:

```
TAGTTGGGGTCTTACTTGGCGGGCTGCTGGCTTTATTGCTGGCGGCTACTGCTGGGCGAGCCCTATCAAAGGC
GAGCGTTGGACTTCGGTCTGAGCTAGTAGCTTTTTATTTAAACCCTTACTTAATACTGATTATACTGTGGGGAC
GAAAGTCTCTGCTTTAACTAGATAGCAACTTTCAGCAGTGGATGTCTAGGCTCGCACATCGATGAAGAACGCTGC
GAACTGCGATACGTAATGCGAATTGCAGGATTCAGTGAGTCATCGAAATTTGAACGCATATTGCACTCCGGGTT
AGTCTGGAAGTATGCCTGTATCAGTGTCCGTACAACAACTTGGCTTCTTCCCTCCGTGTAGTCGGTGGAGGAGA
TGCCAGATGTGAAGTGTCTTGGCGTTGGTTTTCGGACCGACTGCGAGTCCTTTTAAATGTAATAACTGTACTTCTC
TTTGCTCCAAGTGGTGGCATTGCTGGTTGTGGACGCTGCTATTGTAGCGAGTTGGCGACCGTTTGTCTGCTGCG
GCGTTAATGGAGAAATGCTCGATTCTGTTGATGTTGGCTTCGGCTGAACAATGCGCTTATTGGGTGATTTCTGTC
TGTGGCGTATGGAATGGTGAACCATGGCTCTTAGCTTGGCATTGAATCGGCTTTGCTGTTGCGAAGTAGAGTGG
CGGCTTCGGCTGCCGAGGGTCGATCCATTTGGAAATGTTGTGTACTTCGGTATGCATCTCAATTGGACCTGATATC
AGGCAAGATTACCCGCTGAACCTAGCTACATAAAGGGGGGGGAGAAGAAACACACCTTAAAACCTTCCCGTGAAC
CGTTCCACCAATAGTTGGGGTCTAACTTGGCGGCCCGCCGGC
```

Cebador: ITS4

Secuencia:

CCAAATGGATCGACCTCGGCAGCCGAAGCCGCACTCTACTTCGCAACAGCAAAGCCGATTCAAATGCCAAGCTAAAGAGCCA
TGGTTCACCAAGTCCATCAGCCACAGCAGGAAAAACCCCAATAAGCGCATTGTTAGCCGAAGCCAACCATACCACGAATCGA
GCATTTCCATTAACGCCGAGCAGACAAAACCGTCGCCAACTCGTACAATAGCAGCGTCCACAACCAGCAATGCCACCACTT
TTGGAGCAAAGAGAAGTACAGTTTAGTACATTTAAAAGGACTCGCAGTCGGTCCGAAAACCAACCGCAAGACACTCACATCTG
GCATCTCCTCCACCGACTACCGGAAGGAAGAAAGCCAAGTTTGTGTACGGACTGATACAGGCATACTCCAGGACTAACC
CGGAAGTGCAATATGCGTTCAAATTTGATGACTACTGAATCCTGCAATTCGCATTACGTATCGCAGTTCGCAGCGTTCTTCAT
CGATGTGCGAGCCTAGACATCCACTGCTGAAAGTTGCTATCTAGTTAAAAGCAGAGACTTTCGTCCCCACAGTATAATCAGTATT
AAGTAAAGGGTTTAAAATAAAAAAGCTACTAGCTCAGACCGAAGTCCAACGCTCGCCTTTTGATAGGGCTCGCCAGCAGTAG
CCGCCAGCAATAAAGCCAGCAGCCGCCCAAGTAAGACCCCAACTATGGGGTTGAAACGGTTCACGTGGAAGTTTTAGTT
GTGGTAATGATCC

Microorganismo	Similitud	Número de accesoión	Base de datos
<i>Phytophthora infestans</i>	98.05%	ON705717.1	NCBI

Resultado válido únicamente para la muestra analizada

OBSERVACIONES

N.A

Elaborado por



Melanie Luna
Pasante de laboratorio

Revisado por



Mtr. Jeniffer Yáñez A.
Directora de laboratorio

F-LFBC-01-Ed.1

Anexo 17

Base de datos de las dos especies vegetales

CRECIMIENTO MICELIAL (cm) (MARCO)							
	TRATAMIENTO	Rep 1	Rep 2	Rep 3	SUMA	PROMEDIO	SD
DÍA 4	T1	2	3	2	7	2,33	
	T2	2	2	3,5	7,5	2,5	
	T3	2	1,5	1,5	5	1,667	
	T4	2	2,5	1,5	6	2,333	
DÍA 5	T1	3	3	3,5	9,5	3,167	
	T2	3,5	2	3	8,5	2,833	
	T3	3	3,5	2	8,5	2,833	
	T4	3	3,5	3	9,5	3,167	
DÍA 6	T1	4	5	6	15	5	
	T2	4	3	3,5	10,5	3,5	
	T3	3,5	2,8	2,3	8,6	2,86	
	T4	4	4	4	12	4	
DÍA 7	T1	3	3	2,15	11,5	2,71	
	T2	4	4	2,5	10,5	3,5	
	T3	5	4,5	4	13,5	4,5	
	T4	7	6,5	5	18,5	6,16	
	T5	8	7,25	8,05	23,3	7,77	
	T6 (químico)	1,33	2,05	1,17	4,55	1,51	
	T7 (solvente)	4,45	3,19	4,27	11,91	3,97	

CRECIMIENTO MICELIAL (cm) (MOLLE)							
DÍAS	TRATAMIENTO	Rep 1	Rep 2	Rep 3	SUMA	PROMEDIO	SD
DÍA 4	T1	1,5	2	2	5,5	1,833	
	T2	2	1	1,5	4,5	1,5	
	T3	1,2	2	0,7	3,9	1,3	
	T4	1	2	3,5	6,5	2,167	
DÍA 5	T1	1,5	2,5	2,8	6,8	2,267	
	T2	3,5	3	2,5	9	3	
	T3	2,8	3	2,5	8,3	2,767	
	T4	3	4,5	6	13,5	4,5	
DÍA 6	T1	2	3	3,5	8,5	2,833	
	T2	4	4	3,5	11,5	3,833	
	T3	4	5	4	13	4,333	
	T4	6	6,5	7,5	20	6,667	
DÍA 7	T1	2,5	3,5	3,01	9,01	3	
	T2	5,03	5,11	4,07	14,21	4,7	
	T3	6,21	6,8	5,47	18,75	6,25	
	T4	7,5	6,31	6,17	19,98	6,66	
	T5	7,82	8,17	8,23	24,22	8,07	
	T6 (químico)	1,23	2,03	1,83	5,09	1,69	
	T7 (solvente)	4,22	5,11	4,17	13,5	4,5	

InfoStat/L - Nueva tabla_11

Archivo Edición Datos Resultados Estadísticas Gráficos Ventanas Aplicaciones Ayuda [R]

Nueva tabla_11

Resultados

Análisis de la varianza

Variable N R² R² A₁ CV
Crecimiento micelial 21 0,95 0,93 10,92

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	86,28	6	14,38	49,74	<0,0001
Tratamientos	86,28	6	14,38	49,74	<0,0001
Error	4,13	14	0,30		
Total	90,41	20			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,51436

Error: 0,2950 gl: 14

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T6	1,70	3	0,31	A
T1	3,00	3	0,31	A B
T7	4,50	3	0,31	B C
T2	4,74	3	0,31	C D
T3	6,16	3	0,31	D E
T4	6,66	3	0,31	E F
T5	9,07	3	0,31	F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

ANAVA ANAVA EstDesc Shapiro-Wilk ANAVA EstDesc Shapiro-Wilk EstDesc EstDesc ANAVA ANAVA ANAVA EstDesc ANAVA EstDesc TablaFrec ANAVA TablaFrec ANAVA EstDesc ANAVA ANAVA EstDesc ANAVA

InfoStart - Nueva tabla_10

Archivo Edición Datos Resultados Estadísticas Gráficos Ventanas Aplicaciones Ayuda [R]

Nueva tabla_10

Resultados

Análisis de la varianza

Variable	N	E*	R*	Sj	CV
Crecimiento micelial	21	0,93	0,89	15,73	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	79,43	6	13,27	28,98	<0,0001
Tratamientos	79,43	6	13,27	28,98	<0,0001
Error	6,42	14	0,46		
Total	86,05	20			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,88772

Error: 0,4604 gl: 14

Tratamientos

Medias	n	E.E.
T6	1,52	3 0,39 A
T1	2,72	3 0,39 A B
T2	3,80	3 0,39 B
T7	3,97	3 0,39 B
T3	4,50	3 0,39 B C
T4	6,17	3 0,39 C D
T5	7,77	3 0,39 D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

ANAVA ANAVA ANAVA ANAVA ANAVA EstDesc Shapiro-Wilk ANAVA EstDesc Shapiro-Wilk EstDesc EstDesc ANAVA ANAVA ANAVA EstDesc ANAVA EstDesc TablaFrec ANAVA TablaFrec ANAVA EstDesc ANAVA ANAVA ANAVA

Nueva tabla_10