



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE RECURSOS NATURALES**  
**CARRERA INGENIERÍA FORESTAL**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DE  
UN FUNGICIDA NATURAL A BASE DE EXTRACTOS DE DOS  
ESPECIES FRUTALES COMO CONTROL DE DOS CEPAS DE**  
*Fusarium*

**Trabajo de Integración Curricular**

**Tipo:** Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERA FORESTAL**

**AUTORA:**

**ERIKA MICHELLE PEÑA QUIROZ**

Riobamba – Ecuador

2023



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE RECURSOS NATURALES**  
**CARRERA INGENIERÍA FORESTAL**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DE  
UN FUNGICIDA NATURAL A BASE DE EXTRACTOS DE DOS  
ESPECIES FRUTALES COMO CONTROL DE DOS CEPAS DE**  
*Fusarium*

**Trabajo de Integración Curricular**

**Tipo:** Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERA FORESTAL**

**AUTORA:** ERIKA MICHELLE PEÑA QUIROZ

**DIRECTORA:** BQF. CRISTINA NATALY VILLEGAS FREIRE

Riobamba – Ecuador

2023

© 2023, Erika Michelle Peña Quiroz

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Erika Michelle Peña Quiroz, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 16 de febrero del 2023

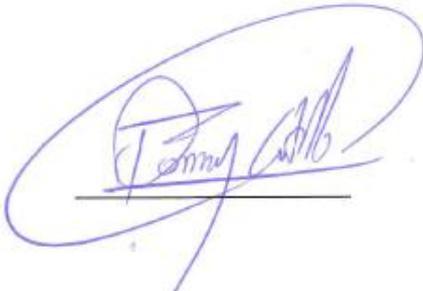
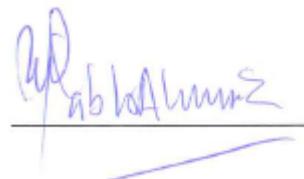


**Erika Michelle Peña Quiroz**

**1804884003**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE RECURSOS NATURALES**  
**CARRERA INGENIERÍA FORESTAL**

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Proyecto de Investigación, **EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DE UN FUNGICIDA NATURAL A BASE DE EXTRACTOS DE DOS ESPECIES FRUTALES COMO CONTROL DE DOS CEPAS DE *Fusarium***, realizado por la señorita: **ERIKA MICHELLE PEÑA QUIROZ**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Ing. Danny Daniel Castillo Vizuete, PhI <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>		2023-02-16
Bqf. Cristina Nataly Villegas Freire, MSc. <b>DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2023-02-16
Ing. Pablo Israel Álvarez Romero, PhD. <b>ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2023-02-16

## **DEDICATORIA**

Le dedico el resultado de este trabajo a toda mi familia principalmente a mis padres Walter y Grace, que me apoyaron en los momentos buenos y en los malos. Gracias por enseñarme a afrontar las dificultades sin perder nunca la cabeza ni morir en el intento, me han enseñado a ser la persona que soy hoy, mis principios, mis valores, mi perseverancia y mi empeño, todo esto con un enorme cariño y sin pedir nada a cambio. A mi hermano Joel también le quiero agradecer por ser ese apoyo incondicional en el transcurso de mi vida ya que por el siempre he tratado de ser una mejor persona, también quiero dedicar este logro a mis primos que hoy ya no se encuentran en este mundo terrenal Lenin y Andrés ya que siempre fueron un apoyo incondicional para mí. Quiero dedicar y agradecer a mis amigos por su apoyo incondicional por siempre estar presente en las situaciones buenas y malas de mi vida especialmente a Alejandra y Sol que más que mis amigas han sido como hermanas para mí.

Erika

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por permitirme formar como profesional en sus aulas, también quiero agradecer a los docentes de la Carrera de Ingeniera Forestal por sus enseñanzas compartidas en cada una de las aulas, por enseñarnos el importante valor que tiene el ambiente y sus beneficios a la sociedad. En especial quiero agradecer a la Bqf. Cristina Villegas por su apoyo incondicional, tiempo, enseñanza y sugerencias para la realización de mi trabajo de titulación, también quiero agradecer a los Ing. Pablo Álvarez y Juan Guerra quienes supieron direccionarme en mi investigación en fase de laboratorio, quedo muy agradecida por su eventual y desinteresado apoyo, por su tiempo puesto en mi trabajo para culminarlo y su excelente dirección en el desarrollo del mismo.

Erika

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xv
RESUMEN.....	xvii
ABSTRACT.....	xviii
INTRODUCCIÓN.....	1

### CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	2
1.1 Planteamiento del problema.....	2
1.2 Objetivos.....	2
1.2.1 <i>Objetivo general</i> .....	2
1.2.2 <i>Objetivos específicos</i> .....	2
1.3 Justificación.....	3
1.4 Hipótesis.....	3
1.4.1 <i>Hipótesis nula</i> .....	3
1.4.2 <i>Hipótesis alternante</i> .....	3

### CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO.....	4
2.1 <i>Juglans neotropica</i> .....	4
2.1.1 <i>Taxonomía</i> .....	4
2.1.2 <i>Descripción botánica</i> .....	4
2.1.3 <i>Usos</i> .....	4
2.1.4 <i>Distribución y hábitat</i> .....	5
2.1.5 <i>Composición química</i> .....	5
2.2 <i>Persea americana</i> .....	5
2.2.1 <i>Taxonomía</i> .....	5
2.2.2 <i>Descripción botánica</i> .....	6
2.2.3 <i>Usos</i> .....	6
2.2.4 <i>Distribución y hábitat</i> .....	6
2.2.5 <i>Metabolitos secundarios</i> .....	6

<b>2.3</b>	<b>Extractos vegetales .....</b>	<b>7</b>
<b>2.3.1</b>	<b>Tipos de extractos .....</b>	<b>7</b>
2.3.1.1	<i>Extractos fluidos .....</i>	7
2.3.1.2	<i>Extractos secos .....</i>	7
2.3.1.3	<i>Extractos blandos .....</i>	7
<b>2.3.2</b>	<b>Métodos de extracción .....</b>	<b>7</b>
2.3.2.1	<i>Maceración.....</i>	8
2.3.2.2	<i>Infusión.....</i>	8
2.3.2.3	<i>Percolación.....</i>	8
2.3.2.4	<i>Decocción.....</i>	8
2.3.2.5	<i>Digestión.....</i>	8
2.3.2.6	<i>Con fluidos supercríticos.....</i>	9
<b>2.3.3</b>	<b>Tamizaje fitoquímico .....</b>	<b>9</b>
2.3.3.1	<i>Ensayos cuantitativos .....</i>	9
2.3.3.2	<i>Ensayos cualitativos .....</i>	9
<b>2.4</b>	<b>Hongos fitopatógenos .....</b>	<b>9</b>
<b>2.4.1</b>	<b><i>Fusarium spp.</i> .....</b>	<b>10</b>
2.4.1.1	<i>Clasificación taxonómica .....</i>	10
2.4.1.2	<i>Características morfológicas .....</i>	10
2.4.1.3	<i>Generalidades de Fusarium solani.....</i>	11
2.4.1.4	<i>Generalidades de Fusarium oxysporum.....</i>	11
2.4.1.5	<i>Control.....</i>	11
<b>2.5</b>	<b>Fungicidas.....</b>	<b>11</b>
<b>2.5.1</b>	<b><i>Fungicida químico.....</i></b>	<b>11</b>
<b>2.5.2</b>	<b><i>Fungicida natural.....</i></b>	<b>12</b>
2.5.2.1	<i>Actividad antifúngica de extractos .....</i>	12
<b>2.6</b>	<b>Crecimiento micelial.....</b>	<b>12</b>
<b>2.7</b>	<b>Concentración letal 50.....</b>	<b>13</b>

### CAPÍTULO III

<b>3.</b>	<b>MARCO METODOLÓGICO.....</b>	<b>14</b>
<b>3.1</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>14</b>
<b>3.1.1</b>	<b><i>Características del lugar.....</i></b>	<b>14</b>
3.1.1.1	<i>Localización de los laboratorios .....</i>	14
3.1.1.2	<i>Ubicación geográfica de los laboratorios.....</i>	14
3.1.1.3	<i>Características climatológicas de los laboratorios.....</i>	15

3.1.1.4	<i>Localización de las especies frutales</i> .....	15
3.1.1.5	<i>Ubicación geográfica</i> .....	15
3.1.1.6	<i>Características climatológicas</i> .....	15
<b>3.1.2</b>	<b><i>Materiales y equipos</i></b> .....	<b>16</b>
3.1.2.1	<i>Materiales de Campo</i> .....	16
3.1.2.2	<i>Equipos de campo</i> .....	16
3.1.2.3	<i>Materiales de laboratorio</i> .....	16
3.1.2.4	<i>Equipos de laboratorio</i> .....	17
3.1.2.5	<i>Reactivos e insumos</i> .....	17
3.1.2.6	<i>Materiales y Equipos de oficina</i> .....	18
3.1.2.7	<i>Material biológico</i> .....	18
<b>3.1.3</b>	<b><i>Tipo de investigación</i></b> .....	<b>18</b>
<b>3.1.4</b>	<b><i>Identificación de la variable</i></b> .....	<b>18</b>
3.1.4.1	<i>Variable dependiente</i> .....	18
3.1.4.2	<i>Variable independiente</i> .....	19
<b>3.1.5</b>	<b><i>Análisis de datos</i></b> .....	<b>19</b>
3.1.5.1	<i>Diseño experimental</i> .....	19
<b>3.1.6</b>	<b><i>Tratamientos de estudio</i></b> .....	<b>19</b>
<b>3.1.7</b>	<b><i>Fase de campo</i></b> .....	<b>24</b>
3.1.7.1	<i>Recolección de muestras</i> .....	24
3.1.7.2	<i>Identificación de las muestras botánicas</i> .....	25
<b>3.1.8</b>	<b><i>Obtención de extractos etanólicos y acuosos</i></b> .....	<b>26</b>
3.1.8.1	<i>Limpieza, desinfección y selección</i> .....	26
3.1.8.2	<i>Secado</i> .....	27
3.1.8.3	<i>Molienda</i> .....	27
3.1.8.4	<i>Preparación de extracto etanólico</i> .....	27
3.1.8.5	<i>Sonicación</i> .....	27
3.1.8.6	<i>Maceración y filtración del extracto</i> .....	28
3.1.8.7	<i>Concentración de los extractos</i> .....	28
3.1.8.8	<i>Preparación del extracto acuoso</i> .....	28
3.1.8.9	<i>Maceración y filtración del extracto</i> .....	28
<b>3.1.9</b>	<b><i>Tamizaje químico</i></b> .....	<b>29</b>
3.1.9.1	<i>Tamizaje químico de extractos etanólicos</i> .....	29
3.1.9.2	<i>Tamizaje químico de extractos acuosos</i> .....	32
3.1.10	<i>Reactivación de los hongos</i> .....	34
3.1.11	<i>Crecimiento micelial</i> .....	35
3.1.12	<i>Concentración letal 50</i> .....	35

3.1.13	<i>Rango de sensibilidad</i> .....	35
--------	------------------------------------	----

## CAPÍTULO IV

4.	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	36
4.1	<b>Procesamiento, análisis e interpretación de resultados</b> .....	36
4.1.1	<i>Tamizaje químico del extracto etanólico de nogal (<i>Juglans neotropica</i>)</i> .....	36
4.1.2	<i>Tamizaje químico del extracto acuoso de nogal (<i>Juglans neotropica</i>)</i> .....	37
4.1.3	<i>Tamizaje químico del extracto etanólico de aguacate (<i>Persea americana</i>)</i> .....	37
4.1.4	<i>Tamizaje químico del extracto acuoso de aguacate (<i>Persea americana</i>)</i> .....	38
4.1.5	<i>Crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> y <i>Fusarium oxysporum</i> en medio enmendado con extracto acuoso de aguacate a distintas concentraciones.</i> .....	39
4.1.6	<i>Crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> y <i>Fusarium oxysporum</i> en medio enmendado con extracto acuoso de nogal a distintas concentraciones</i> .....	42
4.1.7	<i>Crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> y <i>Fusarium oxysporum</i> en medio enmendado con extracto etanólico de aguacate a distintas concentraciones</i> .....	45
4.1.8	<i>Crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> y <i>Fusarium oxysporum</i> en medio envenenado con extracto etanólico de nogal a distintas concentraciones</i> .....	48
4.1.9	<i>Crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> y <i>Fusarium oxysporum</i> en medio enmendado con el fungicida fludioxonil a distintas concentraciones</i> .....	51
4.1.10	<i>Crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> y <i>Fusarium oxysporum</i> en medio enmendado con el fungicida tiabendazol a distintas concentraciones</i> .....	54
4.1.11	<i>Concentración letal 50 de los extractos y fungicidas</i> .....	56
4.2	<b>Discusión de resultados</b> .....	57

## CAPÍTULO V

5.	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....	61
5.1	<b>Conclusiones</b> .....	61
5.2	<b>Recomendaciones</b> .....	62

## GLOSARIO

## BIBLIOGRAFÍA

## ANEXOS

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-3:</b>	Códigos y descripciones de los tratamientos del extracto acuoso de <i>Juglans neotropica</i> que se evaluaron para <i>Fusarium solani</i> y <i>Fusarium oxysporum</i> . ....	20
<b>Tabla 2-3:</b>	Códigos y descripciones de los tratamientos del extracto acuoso de <i>Persea americana</i> que se evaluaron para <i>Fusarium solani</i> y <i>Fusarium oxysporum</i> . ....	20
<b>Tabla 3-3:</b>	Códigos y descripciones de los tratamientos del extracto etanólico de <i>Juglans neotropica</i> que se evaluaron para <i>Fusarium solani</i> y <i>Fusarium oxysporum</i> . ....	21
<b>Tabla 4-3:</b>	Códigos y descripciones de los tratamientos del extracto etanólico de <i>Persea americana</i> que se evaluaron para <i>Fusarium solani</i> y <i>Fusarium oxysporum</i> . ....	21
<b>Tabla 5-3:</b>	Códigos y descripciones de los tratamientos del fungicida fludioxonil que se evaluaron para <i>Fusarium solani</i> y <i>Fusarium oxysporum</i> . .....	22
<b>Tabla 6-3:</b>	Códigos y descripciones de los tratamientos del fungicida tiabendazol que se evaluaron para <i>Fusarium solani</i> y <i>Fusarium oxysporum</i> . .....	22
<b>Tabla 7-3:</b>	Códigos y descripciones de los tratamientos del extracto etanólico de <i>Juglans neotropica</i> que se evaluaron para determinar la concentración letal 50.....	23
<b>Tabla 8-3:</b>	Códigos y descripciones de los tratamientos del extracto etanólico de <i>Persea americana</i> que se evaluaron para determinar la concentración letal 50.....	23
<b>Tabla 9-3:</b>	Códigos y descripciones de los tratamientos del fungicida fludioxonil que se evaluaron para determinar la concentración letal 50.....	24
<b>Tabla 10-3:</b>	Códigos y descripciones de los tratamientos del fungicida tiabendazol que se evaluaron para determinar la concentración letal 50.....	24
<b>Tabla 1-4:</b>	Resultados del tamizaje químico del extracto etanólico de nogal. ....	36
<b>Tabla 2-4:</b>	Resultados del tamizaje químico del extracto acuoso de nogal.....	37
<b>Tabla 3-4:</b>	Resultados del tamizaje químico del extracto etanólico de aguacate.....	37
<b>Tabla 4-4:</b>	Resultados del tamizaje químico del extracto acuoso de aguacate.....	38
<b>Tabla 5-4:</b>	Análisis de varianza del crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto acuoso de aguacate. ....	40
<b>Tabla 6-4:</b>	Análisis de varianza del crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto acuoso de aguacate. ....	40
<b>Tabla 7-4:</b>	Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto acuoso de aguacate. ....	40
<b>Tabla 8-4:</b>	Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto acuoso de aguacate. ....	41
<b>Tabla 9-4:</b>	Análisis de varianza del crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto acuoso de nogal. ....	42

<b>Tabla 10-4:</b>	Análisis de varianza del crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto acuoso de nogal. ....	43
<b>Tabla 11-4:</b>	Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto acuoso de nogal. ....	43
<b>Tabla 12-4:</b>	Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto acuoso de nogal. ....	43
<b>Tabla 13-4:</b>	Análisis de varianza del crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto etanólico de aguacate..	46
<b>Tabla 14-4:</b>	Análisis de varianza del crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto etanólico de aguacate..	46
<b>Tabla 15-4:</b>	Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto etanólico de aguacate..	46
<b>Tabla 16-4:</b>	Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto etanólico de aguacate..	47
<b>Tabla 17-4:</b>	Análisis de varianza del crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> en medio enmendado con distintas dosis del extracto etanólico de nogal. ....	48
<b>Tabla 18-4:</b>	Análisis de varianza del crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto etanólico de nogal.....	49
<b>Tabla 19-4:</b>	Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto etanólico de nogal.....	49
<b>Tabla 20-4:</b>	Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto etanólico de nogal.....	49
<b>Tabla 21-4:</b>	Análisis de varianza del crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del fungicida fludioxonil. ....	51
<b>Tabla 22-4:</b>	Análisis de varianza del crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del fungicida fludioxonil. ....	52
<b>Tabla 23-4:</b>	Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del fungicida fludioxonil. ....	52
<b>Tabla 24-4:</b>	Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del fungicida fludioxonil. ....	52
<b>Tabla 25-4:</b>	Análisis de varianza del crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del fungicida tiabendazol.....	55
<b>Tabla 26-4:</b>	Análisis de varianza del crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del fungicida tiabendazol.....	55
<b>Tabla 27-4:</b>	Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del fungicida tiabendazol.....	55

<b>Tabla 28-4:</b>	Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> en medio enmendado con distintas concentraciones del fungicida tiabendazol.....	56
<b>Tabla 29-4:</b>	Concentración letal 50 de los extractos etanólicos y fungicidas. ....	56

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 1-3:</b>	Ubicación de los laboratorios de la ESPOCH donde se realizó la investigación .....	14
<b>Ilustración 2-3:</b>	Ubicación de donde se recogió las muestras botánicas.....	15
<b>Ilustración 1-4:</b>	Crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> y <i>Fusarium oxysporum</i> en medio enmendado de extracto acuoso de aguacate a distintas concentraciones. ....	39
<b>Ilustración 2-4:</b>	Crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> y <i>Fusarium oxysporum</i> en medio enmendado de extracto acuoso de nogal a distintas concentraciones. ....	42
<b>Ilustración 3-4:</b>	Crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> y <i>Fusarium oxysporum</i> en medio enmendado de extracto etanólico de aguacate a distintas concentraciones..	45
<b>Ilustración 4-4:</b>	Crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> y <i>Fusarium oxysporum</i> en medio enmendado de extracto etanólico de nogal a distintas dosis. ....	48
<b>Ilustración 5-4:</b>	Crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> en medio enmendado con el fungicida fludioxonil a distintas concentraciones. ....	51
<b>Ilustración 6-4:</b>	Crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> en medio enmendado con el fungicida tiabendazol a distintas concentraciones.....	54

## ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** RECOLECCIÓN DEL MATERIAL BOTÁNICO
- ANEXO B:** LIMPIEZA, DESINFECCIÓN, SELECCIÓN Y SECADO DEL MATERIAL VEGETAL DE *Juglans neotropica*.
- ANEXO C:** LIMPIEZA, DESINFECCIÓN, SELECCIÓN Y SECADO DEL MATERIAL VEGETAL DE *Persea americana*.
- ANEXO D:** PROCESO DE ELABORACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO.
- ANEXO E:** PROCESO PARA SONICAR EL EXTRACTO.
- ANEXO F:** PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO.
- ANEXO G:** TAMIZAJE QUÍMICO EN EL EXTRACTO ETANÓLICO.
- ANEXO H:** TAMIZAJE QUÍMICO EN EL EXTRACTO ACUOSO.
- ANEXO I:** PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO Y REACTIVACIÓN DE *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*.
- ANEXO J:** CÁLCULOS PARA DETERMINAR LAS CONCENTRACIONES DEL FUNGICIDA TABENDAZOL.
- ANEXO K:** CÁLCULOS PARA DETERMINAR LAS CONCENTRACIONES DEL FUNGICIDA FLUDIOXONIL.
- ANEXO L:** MONTAJE DEL ENSAYO DE CRECIMIENTO MICELIAL Y OBSERVACIÓN DE CRECIMIENTO MICELIAL EN EXTRACTO ACUOSO Y ETANÓLICO.
- ANEXO M:** CL50 DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE AGUACATE EN DISTINTAS CONCENTRACIONES PARA CONTROLAR *Fusarium oxysporum*.
- ANEXO N:** CL50 DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE AGUACATE EN DISTINTAS CONCENTRACIONES PARA CONTROLAR *Fusarium solani*.
- ANEXO Ñ:** CL 50 DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE NOGAL EN DISTINTAS CONCENTRACIONES PARA CONTROLAR *Fusarium oxysporum*.
- ANEXO O:** CONCENTRACIÓN LETAL 50 DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE NOGAL EN DISTINTAS CONCENTRACIONES PARA CONTROLAR *Fusarium solani*.
- ANEXO P:** CONCENTRACIÓN LETAL 50 DEL FUNGICIDA FLUDIOXONIL EN DISTINTAS CONCENTRACIONES PARA CONTROLAR *Fusarium oxysporum*.
- ANEXO Q:** CONCENTRACIÓN LETAL 50 DEL FUNGICIDA FLUDIOXONIL EN DISTINTAS CONCENTRACIONES PARA CONTROLAR *Fusarium solani*.

- ANEXO R:** ONCENTRACIÓN LETAL 50 DEL FUNGICIDA TIABENDAZOL EN DISTINTAS CONCENTRACIONES PARA CONTROLAR *Fusarium oxysporum*.
- ANEXO S:** CONCENTRACIÓN LETAL 50 DEL FUNGICIDA TIABENDAZOL EN DISTINTAS CONCENTRACIONES PARA CONTROLAR *Fusarium solani*.
- ANEXO T:** CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES.

## RESUMEN

El objetivo de la investigación se basó en evaluar el efecto antimicrobiano de los extractos de nogal y aguacate para el control in vitro de *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*. Los extractos se elaboraron mediante el método de maceración, primero se prepararon los extractos etanólicos y luego con los residuos sólidos de estos extractos se produjeron los extractos acuosos, los extractos etanólicos y acuoso se maceraron por 6 días. El método de crecimiento micelial consistió en enmendar los medios de cultivo con los extractos o fungicidas, el crecimiento micelial se evaluó por 24h, 48h, 120h y 144h, luego se ingresaron los datos que se obtuvieron en las distintas horas al programa R.v.4.2.1. donde se analizaron los factores especies, dosis y la separación de medias mediante el Test de Tukey al 5%. La concentración letal 50 se obtuvo mediante el porcentaje de inhibición que existió en cada dosis y repetición, los datos se ingresaron en el programa R.v.4.2.1. el cual calculó las concentraciones de cada extracto o fungicida para cada especie y se compararon con la escala de sensibilidad que propuso Edgington et al. (1970). Se obtuvo que el crecimiento micelial menor en *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* fue con los extractos etanólicos de aguacate y nogal ya que su crecimiento fue de 0,00mm, a diferencia de los extractos acuoso. En los resultados de la concentración letal 50 se observó que *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* son sensibles al extracto etanólico de aguacate con dosis de 0,6026mg/L y 0,1390mg/L respectivamente. Se comprueba que los extractos etanólicos de aguacate y nogal presentan efecto antimicrobiano contra las especies de *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*, pero el que presenta mayor eficiencia es el extracto etanólico de aguacate. Se recomendó hacer investigaciones complementarias a esta por el alto contenido de metabolitos secundarios en las especies

**Palabras clave:** <NOGAL (*Juglans neotropica*)>, <AGUACATE (*Persea americana*)>, <*Fusarium solani*>, <*Fusarium oxysporum*>, <EFECTO ANTIMICROBIANO>, <CRECIMIENTO MICELIAL>, <CONCENTRACIÓN LETAL 50>.

  
DBRA.I.  
Ing. Cristian Castillo



0448-DBRA-UPT-2023

## ABSTRACT

This research aimed to evaluate the antimicrobial effect of walnut and avocado extracts for the *in vitro* control of *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum*. The extracts were elaborated by the maceration method. First, the ethanolic extracts were prepared, then the solid residues of these extracts. The aqueous extracts were produced, and the ethanolic and aqueous extracts were macerated for six days. The mycelial growth method was amending the culture media with extracts or fungicides. The mycelial growth was evaluated for 24h, 48h, 120h, and 144h. The data obtained at different times were entered into the R.v.4.2.1 program, where the factors species, dose, and the means separation were analyzed using the Tukey Test at 5%. The inhibition percentage obtained the lethal concentration of 50 in each amount and repetition. The data was entered in the R.v.4.2.1 program, which calculated the concentrations of each extract or fungicide for each species and compared them with the sensitivity scale proposed by Edgington et al. (1970). It was obtained that the lowest mycelial growth in *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* was with the ethanolic extracts of avocado and walnut since their development was 0.00mm, unlike the aqueous extracts. The lethal concentration 50 showed that *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* are sensitive to the ethanolic extract of avocado with doses of 0.6026mg/L and 0.1390mg/L, respectively. It is verified that the ethanolic extracts of avocado and walnut present an antimicrobial effect against the species of *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum*. Still, the one with the highest efficiency is the ethanolic extract of avocado. It was recommended to carry out complementary investigations to this due to the species' high content of secondary metabolites.

**Keywords:** <WALNUT (*Juglans neotropica*)>, <AVOCADO (*Persea americana*)>, <*Fusarium solani*>, <*Fusarium oxysporum*>, <ANTIMICROBIAL EFFECT>, <MYCELIAL GROWTH>, <LETHAL CONCENTRATION 50>.

Riobamba, March 7<sup>th</sup>, 2023



Ph.D. Dennys Tenelanda López  
ID number: 0603342189

## INTRODUCCIÓN

La biodiversidad que posee Ecuador se evidencia por la presencia de muchas especies de plantas que proporcionan no solo madera de valor comercial sino también una fuente de productos forestales no maderables (PFNM) como raíces, tallos, frutos, semillas, resinas, fibras, ceras y gomas que se utilizan como alimento o materia prima para producir una gran cantidad de productos (Rumiñahui et al., 2017, p.73).

La investigación científica se está enfocando en encontrar compuestos que sean más efectivos contra patógenos y más seguros para el medio ambiente, los humanos y los insectos benéficos. Los fungicidas naturales a base de extractos de plantas se consideran una alternativa prometedora para combatir patógenos (Scalvenzi et al., 2016, pp.39-40). Las plantas han atraído el interés en el control de enfermedades de las plantas, especialmente los extractos de plantas con propiedades antibacterianas y que contienen varios metabolitos secundarios. La concentración de estos compuestos bioactivos en cada planta depende de las condiciones ambientales y del sistema patológico (Hernández et al., 2007, pp. 119-123). Las plantas sintetizan metabolitos secundarios, que utilizan para defenderse de la infección por agentes fitopatógenos, entre ellos los hongos. El efecto de los compuestos de plantas sobre una serie de patógenos forestales o agrícolas se debe a que contienen metabolitos secundarios con propiedades fungicidas y bactericidas, incluido compuestos fenólicos, cumarinas, flavonoides, taninos, quinonas y otras sustancias. Otras moléculas producidas por las plantas son las fitodefensinas, de naturaleza peptídica y ricas en cisteína, con capacidad de inhibir el crecimiento de los hongos al producir en ellos cambios morfológicos y daño en algunas estructuras celulares (Peralta et al., 2021, pp.268-284).

Los hongos son el grupo de microorganismos más abundante y los causantes de grandes pérdidas económicas en el sector forestal y agrícola debido a la gran cantidad de enfermedades que provocan. Se cree que todas las plantas se ven afectadas al menos una vez, pero en realidad, estos organismos las infectan innumerables veces. El hábitat de los hongos es muy amplio, ya que se encuentran en el suelo, el aire y el agua, afectando a plantas y animales, estos pueden crecer en diferentes climas (Sánchez, 2018, p.32).

Los hongos del género *Fusarium* se encuentran en todo el mundo y pueden habitar en todos los ecosistemas, incluidos los desiertos y las regiones heladas, las especies de este género están muy extendidas en el suelo y son la causa de muchas enfermedades que afectan a los cultivos causando pudrición de raíces (raíz, cuello, tallo) y marchitez vascular causada por especies de este género (Camacho, 2012, pp.1-2).

# CAPÍTULO I

## 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1 Planteamiento del problema

Hoy en día se reportan grandes pérdidas en el sector agrícola y forestal debido a hongos fitopatógenos como lo es *Fusarium* spp. estos hongos atacan a semillas o plántulas ya sea evitando su germinación o la pudrición de los tallos y semillas, también produce el marchitamiento en las plantas, además, se ha visto que presenta un gran potencial evolutivo que ha provocado grandes pérdidas a nivel mundial debido a su amplia gama de hospederos. Para combatir los efectos negativos de estos hongos se utilizan fungicidas de las familias de benzimidazol, dicarboximidias y fenilpirroles, sin embargo, se han detectado efectos adversos en el ambiente y en la salud humana, además, muchos de estos hongos han ido presentando resistencia a los fungicidas comerciales por el mal uso que se les ha dado. En Ecuador existe una amplia variedad de especies forestales que no han sido estudiadas sus propiedades fitoquímicas y que muchas de estas presentan mecanismos de defensa ante patógenos porque sintetizan metabolitos secundarios para su defensa.

### 1.2 Objetivos

#### 1.2.1 *Objetivo general*

Evaluar el efecto antimicrobiano de un fungicida natural a base de extractos de *Juglans neotropical* y *Persea americana* para el control *in vitro* de *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*.

#### 1.2.2 *Objetivos específicos*

Preparar un fungicida natural a partir de extractos de *Juglans neotropica* y *Persea americana*.

Determinar la actividad antifúngica *in vitro* del fungicida natural a distintas concentraciones, mediante el método de crecimiento micelial.

Establecer la concentración letal 50 del fungicida natural

### **1.3 Justificación**

Los hongos fitopatógenos como lo son *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani* han ido presentando resistencia a los fungicidas comerciales, el Comité de Acción contra la Resistencia a Fungicidas (FRAC) habla de la resistencia de tiabendazol y fludioxonil por el mal uso que le ha dado el hombre al no rotar los principios activos según el modo de acción, además, muchos de los fungicidas comerciales presentan efectos adversos en la salud humana y afectan al ecosistema, es por eso que en la actualidad se están realizando estudios de extractos vegetales que tengan alto contenido de metabolitos secundarios porque se ha visto que muchos de estos inhiben el crecimiento de los patógenos que se encuentran afectando a plántulas en vivero. Por esta razón se presenta como una alternativa los extractos etanólicos y acuosos de aguacate (*Persea americana*) y nogal (*Juglans neotropica*) para controlar *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani*, ya que se ha visto en estudios similares que los extractos vegetales de estas especies tienen un alto contenido de metabolitos secundarios que ayudan a inhibir el crecimiento micelial de los hongos fitopatógenos, siendo, esta alternativa más amigable con el ambiente.

### **1.4 Hipótesis**

#### **1.4.1 *Hipótesis nula***

El fungicida natural de extractos de *Juglans neotropica* y *Persea americana* presentan efectos antifúngicos frente a *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*.

#### **1.4.2 *Hipótesis alternante***

El fungicida natural de extractos de *Juglans neotropica* y *Persea americana* no presentan efectos antifúngicos frente a *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*.

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1 *Juglans neotropica*

##### 2.1.1 *Taxonomía*

Según Rojas y Torres (2008, p.1) la descripción taxonómica del nogal es la siguiente:

**Reino:** Plantae

**División:** Magnoliophyta

**Familia:** Juglandaceae

**Género:** *Juglans*

**Especie:** *J. neotropica*

**Nombre Científico:** *Juglans neotropica*

**Nombre Común:** Nogal, Tocte

##### 2.1.2 *Descripción botánica*

Es un árbol dioico con una altura de 15 a 48 m y una raíz pivotante que alcanza una profundidad de 3 m. Su tallo o base es cilíndrico y recto, con un diámetro torácico de 30 a 120 cm, la corteza exterior es de color gris oscuro con grietas y la corteza interior es de color crema, posee copas irregulares, sus hojas son alternas e imparipinadas, además, sus inflorescencias son amentos tipo espiga que salen de las axilas de las hojas, sus frutos son drupas y estos poseen una sola semilla (Toro y Roldán, 2018: p.3).

##### 2.1.3 *Usos*

Las plantas de *Juglans neotropical* tiene muchos usos, comenzando por las hojas que se usan para antidiarreicos, astringentes, infecciones del tracto urinario, infecciones de ovario e infusiones como las infusiones, la corteza, las hojas, los frutos del mesocarpio y las raíces se utilizan en la industria textil para hacer duraderos. tintes para teñir tejidos de algodón y lana (Ospina et al., 2003: p.35). El nogal es de tan alta calidad que es muy apreciado en la fabricación de muebles, artesanías, instrumentos de cuerda, chapas, construcción, ebanistería, etc. (Alberca, 2014, p.7).

#### **2.1.4 Distribución y hábitat**

Esta especie se encuentra de forma silvestre en la región neotropical, pero estas plantas también se encuentran en algunas áreas. Su distribución va desde los 1.400 hasta los 2.700 metros sobre el nivel del mar. En Ecuador se encuentran en las provincias de Azuay, Bolívar, Chimborazo, Loja, Napo, Pichincha y Tungurahua. Está localizado en: Bosques siempreverdes de tierras bajas de los Andes occidentales y orientales. bosques montanos siempreverdes de los Andes occidentales y orientales (MAE, 2015, p.51).

#### **2.1.5 Composición química**

La corteza contiene elagitaninos. Sus frutos contienen ácidos málico y oxálico, así como naftaquinonas, las hojas contienen aceites esenciales y alcaloides como Juglandina, Juglona y polifenoles, las semillas de esta variedad contienen de 60% a 65% de aceite (Bardales y Ureta, 2017: pp.20-21). Según Hurtado, et al. (2015, pp.283-289) las semillas contienen carbohidratos, azúcares reductores, compuestos fenólicos como flavonoides y taninos, esteroides, triterpenos, saponinas y alcaloides, además, los estudios sobre la actividad terapéutica de los extractos hidroalcohólicos de hojas de *Jugland neotropica* Diels mostraron la presencia de aminoácidos, flavonoides, taninos y saponinas como los componentes mayoritarios, mientras que los compuestos fenólicos y las lactonas fueron minoritarios.

### **2.2 Persea americana**

#### **2.2.1 Taxonomía**

Según Pérez, et al. (2015, pp.111-123) el aguacate es clasificado taxonómicamente de la siguiente forma:

**Reino:** Plantae

**División:** Magnoliophyta

**Clase:** Magnoliopsida

**Orden:** Laurales

**Familia:** Lauraceae

**Género:** *Persea*

**Especie:** *P. americana*

**Nombre común:** Aguacate, Palta

### **2.2.2 Descripción botánica**

Esta especie puede crecer hasta 20 metros de altura cuando no están plantadas y 5-10 metros cuando están plantadas, estas plantas son fáciles de manejar, el tronco y las ramas del árbol de aguacate son de rápido crecimiento, delgados y con muchas ramas, las ramas se clavan en el tronco en ángulos de 60 y 70 grados (Ushiña, 2017, pp.4-5). Hojas simples, ovaladas, delgadas, con nervios plumosos; las inserciones en el tallo son los pecíolos de color rojo claro cuando es joven, cuando madura, lisa y dura en la epidermis madura, de color verde oscuro (Flores, 2013, p.18). Las inflorescencias del aguacate son racimos axilares o terminales, la mayoría de los cuales son terminales, y las flores son anatómicamente hermafroditas, el aguacate es un fruto carnoso que consta de un solo cuerpo frutal con una semilla central formada por dos cotiledones unidos longitudinalmente (Ushiña, 2017, pp.4-5).

### **2.2.3 Usos**

Utilizado como fuente de madera, aliado curativo, antihelmíntico, depilatorio, protector de la salud y preventivo de enfermedades, también en forma de alimentos procesados como el guacamole, aceites tradicionalmente obtenidos con fines cosméticos, aceites vírgenes para cocinar, etc (Ibarra, 2015, pp.16-17).

### **2.2.4 Distribución y hábitat**

Álvarez et al. (2021, p.18) dice que el aguacate se encuentra ubicado en los valles interandinos de la Sierra, en las provincias de Imbabura (Chota y Salinas), Carchi (Mira), Pichincha (Guayllabamba), Tungurahua (Patate y Baños) y Azuay (Paute y Gualaceo).

### **2.2.5 Metabolitos secundarios**

En un estudio realizado por Aymacaña (2018) se identificaron triterpenos, quinonas y trazas de lactonas, flavonoides, aminoácidos y compuestos fenólicos, el perfil de ácidos grasos permitió identificar dos ácidos grasos esenciales: ácido linoleico y ácido linolénico, omega-6 y omega-3. Además, en otro estudio se encuentra que los aguacates contienen saponinas, taninos, alcaloides, fenoles y flavonoides, fenoles y polifenoles que se cree que tienen actividad antibacteriana y antifúngica (Cruz y Franco, 2007, pp.48-49).

## **2.3 Extractos vegetales**

Son compuestos formados por la preparación de sustancias bioactivas presentes en los tejidos vegetales utilizando disolventes (alcoholes, agua, mezclas de los mismos u otros disolventes selectivos) y procedimientos de extracción, se pueden obtener diferentes tipos de sustancias de una misma planta dependiendo de la parte, el solvente y el método de extracción (Santamaria et al, 2015).

### **2.3.1 Tipos de extractos**

#### **2.3.1.1 Extractos fluidos**

Se obtienen por impregnación en alcohol a 70° seguida de concentración al vacío y normalización a 1:1, generalmente, primero se hace una extracción completa, de la cual el 80% se obtiene como líquido, luego, el resto se concentra al vacío hasta obtener una consistencia mixta suave estandarizada en una proporción de 1:1 (Guerra, 2005, p.55).

#### **2.3.1.2 Extractos secos**

Se obtiene un extracto seco por evaporación de todos los disolventes hasta quedar en forma de polvo sólido, son muy estables, pueden ser higroscópicos, pero son fáciles de manipular y se pueden utilizar para preparar alcoholes líquidos de extracción (Kuklinski, 2003; citado en Amaguaña y Churuchumbi, 2018: p.11).

#### **2.3.1.3 Extractos blandos**

Poseen una concentración de principio activo superior a la de la droga original y tienen consistencia semisólida. El disolvente suele ser agua o mezclas hidroalcohólicas. Los extractos blandos son poco estables y resultan difíciles de manipular; por lo que no se utilizan (Carrión y García, 2010).

### **2.3.2 Métodos de extracción**

Existen varios métodos para extraer los extractos vegetales como son: maceración, infusión, percolación, decocción, digestión y con fluidos supercríticos.

### 2.3.2.1 *Maceración*

Es una extracción que se realiza a temperatura ambiente. Consiste en remojar el material vegetal, debidamente fragmentado en un solvente (agua o etanol, se prefiere el etanol puesto que a largos tiempos de extracción el agua puede propiciar la fermentación o la formación de mohos) hasta que éste penetre y disuelva las porciones solubles. Se puede utilizar cualquier recipiente con tapa que no sea atacado con el disolvente; en éste se colocan el material vegetal con el disolvente y tapado se deja en reposo por un período de 2 a 14 días con agitación esporádica. Luego se filtra el líquido, se exprime el residuo, se recupera el solvente en un evaporador rotatorio y se obtiene el extracto (Gonzales, 2004).

### 2.3.2.2 *Infusión*

Es el proceso en cual se somete a la droga previamente humedecida al contacto con el solvente a una temperatura igual a la de ebullición del agua por cinco minutos, se deja enfriar hasta temperatura ambiente y se prepara al 5% (Carrión y García, 2010).

### 2.3.2.3 *Percolación*

Éste tipo de extracción se realiza en recipientes (percoladores) cilíndricos o cónicos que poseen dispositivos de carga y descarga, lográndose una extracción total de los principios activos (prácticamente se obtiene hasta el 95% de sustancias extraíbles); se debe tomar en cuenta que el tiempo en el que la droga permanece en contacto con el solvente y la relación existente entre la droga y el líquido extractivo, son dos factores decisivos dentro de la percolación (Jara, 2010; citado en Urquiza, 2016)

### 2.3.2.4 *Decocción*

El material vegetal se pone en contacto con el agua, y el conjunto se lleva a ebullición, la misma que se mantiene durante 5 a 30 minutos, hasta un máximo de 30 minutos. Generalmente, se aplica este método a partes leñosas de la planta y el tiempo de decocción depende de las características de las partes que se va a utilizar de la planta (Endara et al., 2008; citado en Naveda, 2010).

### 2.3.2.5 *Digestión*

Es una maceración realizada a una temperatura suave que oscila alrededor de los 50 o 60° C. Al aumentar medianamente la temperatura se consigue un mayor rendimiento de la extracción,

puesto que disminuye la viscosidad del solvente lo que hace que éste pueda ingresar más rápidamente al interior de las células y así extraer los principios activos (Carrión y García, 2010).

#### *2.3.2.6 Con fluidos supercríticos*

Este método es una operación unitaria que explota el poder disolvente de fluidos supercríticos en condiciones encima de su temperatura y presión críticas (García, 2017). El CO<sub>2</sub> es el fluido supercrítico más utilizado debido a que es no tóxico, no inflamable, no corrosivo, incoloro, no es costoso, se elimina fácilmente, no deja residuos, sus condiciones críticas son relativamente fáciles de alcanzar y se consigue con diferentes grados de pureza, se puede trabajar a baja temperatura y por tanto, se pueden separar compuestos termolábiles, se puede obtener a partir de procesos de fermentación alcohólica y ayuda a prevenir la degradación térmica de ciertos componentes químicos del alimento cuando son extraídos (Velasco et al., 2007).

#### *2.3.3 Tamizaje fitoquímico*

El análisis físico químico permite conocer la composición de extractos vegetales, caracterizando sus principios activos. El análisis físico químico incluye análisis cuantitativos y cualitativos (Llivicura, 2018).

##### *2.3.3.1 Ensayos cuantitativos*

Este análisis ayuda a determinar valores específicos de parámetros como son: el porcentaje de humedad, cenizas totales, pH, densidad e índice de refracción (Tirado et al., 2015; citado en Llivicura, 2018).

##### *2.3.3.2 Ensayos cualitativos*

Se fundamenta en la caracterización de compuestos específicos derivados del metabolismo secundario (alcaloides, flavonoides, terpenos, etc.), además se considera el análisis organoléptico de los extractos como lo son: el olor, color, sabor y textura. Se realizan a drogas vegetales (enteras, trozadas y pulverizadas) y también a extractos obtenidos de la planta (Pérez, 2014).

## **2.4 Hongos fitopatógenos**

Los hongos son pequeños organismos productores de esporas, generalmente microscópicos, eucarióticos, ramificados y a menudo filamentosos que carecen de clorofila y que tienen paredes

celulares que contienen quitina, celulosa, o ambos componentes. La mayoría de las 100000 especies de hongos conocidas son estrictamente saprofitas y viven sobre la materia orgánica muerta, a la que descomponen. Alrededor de 50 especies de hongos producen enfermedades en el hombre y casi el mismo número ocasiona enfermedades en los animales. Se considera que más de 8.000 especies de hongos producen enfermedades en las plantas (Peña y Páez, s.f.).

#### **2.4.1 *Fusarium* spp.**

El género *Fusarium* comprende muchas especies de hongos filamentosos ampliamente distribuidos a nivel mundial. Varios miembros de este género pueden causar enfermedades en plantas, animales y humanos. Diferentes especies de *Fusarium* causan enfermedades en algunos de los más importantes cultivos, como arroz, maíz, trigo, frijol, soya, calabaza, melón y sandía, entre otros (Smith, 2007; citado en Rentería et al., 2018).

##### **2.4.1.1 Clasificación taxonómica**

Según Alexopoulos et al. (1985,1996) citado en Martínez (2012) *Fusarium* spp. se clasifica taxonómicamente de la siguiente manera:

**Reino:** Fungi

**Phylum:** Ascomycota

**Clase:** Sordariomycetes

**Orden:** Hypocreales

**Familia:** Nectriaceae

**Género:** *Fusarium*

**Especies:** *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*

##### **2.4.1.2 Características morfológicas**

Las colonias de este género poseen un crecimiento acelerado con una textura algodonosa o aterciopelada, sus tonalidades son diversas que pueden ir desde blancas, rosado durazno, rojas carmín, violeta hasta variaciones leves de amarillo quemado (dependiendo de la especie), suelen producir pigmentación que se observa en el anverso de las colonias en algunas ocasiones son difusibles al medio (Cepero et al., 2012; citado en Minda, 2018).

#### 2.4.1.3 Generalidades de *Fusarium solani*

*Fusarium solani* es un habitante del suelo, parásito facultativo por excelencia, sobrevive a expensas de la materia orgánica presente en el suelo y de plantas vivas. Es patógeno de muchas especies botánicas, incluyendo gramíneas (Mantecón, 2015). Infecta las plantas, mediante la emisión de un tubo germinativo, que atraviesa los tejidos de las raíces y coloniza los vasos de la xilema hasta obstruirlos e impide la translocación de agua y de nutrientes a otros órganos de la planta, produciendo el marchitamiento en la planta (Ortíz et al. 2014; Castaño-Zapata, 2015 citado en Ángel et al., 2018).

#### 2.4.1.4 Generalidades de *Fusarium oxysporum*

*Fusarium oxysporum* habita en el suelo en ausencia de huésped, sobrevive hasta tres años y puede hospedarse en residuos de cultivo o plantas, puede transmitir o infestar predios mediante plántulas infectadas, semilla contaminada o estacas utilizadas para tutorio. Este patógeno es de clima cálido y se desarrolla óptimamente a 28 °C en suelos húmedos con pH ácido de textura arenosa. El hongo *Fusarium oxysporum* penetra la raíz de forma asintomática, colonizando el tejido vascular y a su vez, provocando un marchitamiento masivo, necrosis y clorosis de las partes aéreas de la planta (Fertilab, 2018).

#### 2.4.1.5 Control

Para el control de estos fitopatógenos se ha desarrollado varias técnicas como lo son: las prácticas culturales, el control biológico y el control químico, siendo el control químico el más usado. Se utilizan fungicidas sistémicos como los benzimidazoles, en este grupo se incluyen el benomil, carbendazim, tiabendazol, y tiofanato. Sin embargo, es probable que estos fungicidas sean agentes mutagénicos de las plantas, así como que pudieran incrementar el grado de resistencia de los patógenos ante su efecto (Villa et al., 2015).

### 2.5 Fungicidas

#### 2.5.1 Fungicida químico

Los fungicidas son usados en la industria, la agricultura y el hogar, estos controlan el desarrollo y proliferación de agentes fúngicos. Las enfermedades provocadas por hongos son muy comunes de encontrar en plantas forestales y agrícolas si no se tiene un manejo adecuado, es por ello por lo que los fungicidas son de gran importancia ya que ayudan a controlar enfermedades durante el

establecimiento y desarrollo de un cultivo evitando así pérdidas económicas para los agricultores y productores de plantas (Santamaria & Ureta, 2014).

### **2.5.2 Fungicida natural**

Los fungicidas naturales son un grupo de sustancias o ingredientes activos que son resistentes a las floraciones de criptas causadas por patógenos fúngicos, estos pueden ser extractos de plantas (aceites esenciales, aceites fermentados y decocciones, lecitina, etc.), también pueden elaborarse a base de organismos (hongos y bacterias) aislados del medio natural que atacan a los organismos causantes de enfermedades (En Buenas Manos, s.f.).

Hoy en día, muchas organizaciones están buscando alternativas menos dañinas que aprovechen las defensas naturales del organismo y reconstruyan por completo los métodos tradicionales de cultivo. Entre estas alternativas se encuentra el desarrollo de pesticidas y repelentes botánicos naturales obtenidos de ciertas plantas. Por regla general, las plantas que pueden servir como fungicidas o repelentes se eligen porque tienen un olor fuerte.

#### **2.5.2.1 Actividad antifúngica de extractos**

Los extractos de plantas han ganado popularidad e interés científico debido a sus propiedades antibacterianas y antifúngicas. Se cree que esta actividad se debe a diferentes metabolitos secundarios presentes en los extractos (Sánchez et al., 2015). Las plantas son una valiosa fuente de metabolitos secundarios, muchos de los cuales son antifúngicos. Los compuestos más famosos son: flavonoides, fenoles, glucósidos fenólicos, saponinas, etc. (Davicino et al., 2007).

## **2.6 Crecimiento micelial**

La dinámica del crecimiento del diámetro fúngico o aumento de biomasa micelial está en función de los parámetros de fermentación e inclusive frente a situaciones de estrés. Varios modelos se han aplicado para describir la cinética del crecimiento del diámetro micelial en distintos tipos de cultivo, como el modelo lineal, exponencial, modelo logístico, como también, modificaciones de éstos (Viniestra-González et al., 1993; citados en Buendía et al., 2020, p.36).

## 2.7 Concentración letal 50

La concentración letal 50 es obtenida mediante análisis estadísticos donde se trata de comprobar que una sustancia mato al 50% de la población que se ha querido controlar dentro de un tiempo específico durante o después de la exposición a la sustancia.

A continuación, se muestra el modelo para la estimación de la  $CL_{50}$ :

$$y = \frac{\alpha}{1 + \text{Exp}(\log\beta \frac{\text{Dosis}}{CL_{50}})}$$

Donde Y es el crecimiento relativo de micelio o la germinación relativa de conidios,  $\alpha$  la asíntota superior (máximo valor posible de y),  $\beta$  es la pendiente en el punto de inflexión y  $CL_{50}$  es la dosis a la cual el crecimiento/germinación es reducido en 50 % (Espinoza et al., 2017: p.194)

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1 MATERIALES Y MÉTODOS

##### 3.1.1 Características del lugar

###### 3.1.1.1 Localización de los laboratorios

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Recursos Naturales y en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias pertenecientes a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.



**Ilustración 1-3:** Ubicación de los laboratorios de la ESPOCH donde se realizó la investigación

**Fuente:** (Google Earth Pro, 2023).

###### 3.1.1.2 Ubicación geográfica de los laboratorios

El laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Recursos Naturales se encuentra a 2831 msnm, 1°39'05"S, 78°41'00"W y el laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias se encuentra a 2817 msnm, 1°39'20"S, 78°40'42"W.

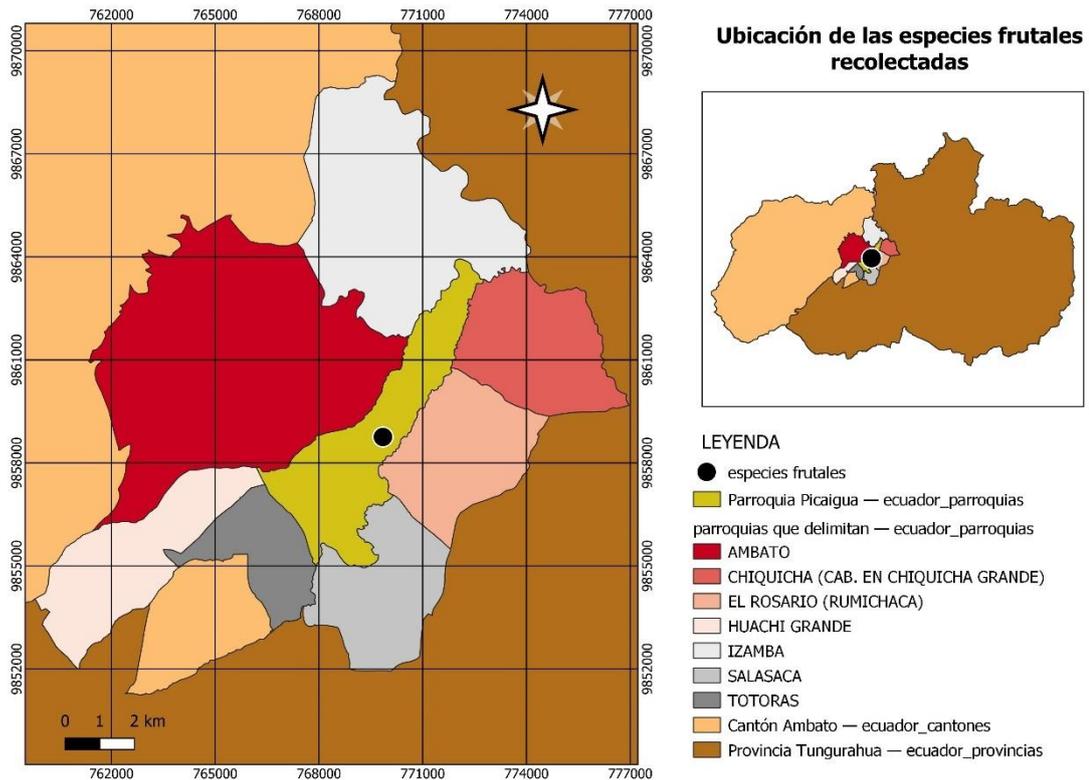
### 3.1.1.3 Características climatológicas de los laboratorios

**Temperatura media anual:** 13.8°C

**Precipitación media anual:** 571.8mm

**Humedad relativa:** 48,80% (Estación Meteorológica de la ESPOCH)

### 3.1.1.4 Localización de las especies frutales



**Ilustración 2-3:** Ubicación de donde se recogió las muestras botánicas.

**Realizado por:** Peña Erika, 2023.

### 3.1.1.5 Ubicación geográfica

Las muestras botánicas de nogal y aguacate fueron recolectadas en el cantón de Ambato parroquia de Picaigua se encuentra a una altitud de 2580 m.s.n.m.

### 3.1.1.6 Características climatológicas

**Temperatura media anual:** 12.4°C

**Precipitación media anual:** 2792mm

### **3.1.2 *Materiales y equipos***

#### **3.1.2.1 *Materiales de Campo***

Bolsas plásticas para recolección de material botánico

Etiquetas adhesivas

Fichas de recolección

#### **3.1.2.2 *Equipos de campo***

Cámara fotográfica

Tijeras de podar

#### **3.1.2.3 *Materiales de laboratorio***

Frascos de vidrio

Probeta

Frascos ámbar

Papel filtro

Vaso de vidrio 1000 mL

Matraz Kitasato 1000 mL

Embudo Buchner

Botellas de vidrio de 500 y 1000 mL

Vasos de precipitación 10mL

Pipeta

Bomba de pipeta

Tubos de ensayo

Gradilla

Embudo de vidrio

Mechero

Jeringas

Reberbero

Parafilm

Papel aluminio

Cajas petri

Piseta

Papel periodico

Papel toalla  
Franela  
Tijeras  
Pinzas de tubo de ensayo  
Vasos plásticos  
Guantes de nitrilo  
Marcador para escribir en plástico y vidrio

#### *3.1.2.4 Equipos de laboratorio*

Molino  
Sonicador  
Bomba de vacío  
Rotavapor  
Balanza analítica  
Autoclave  
Cámara de flujo laminar  
Incubadora biobase  
Estufa Mermmet  
Micropipeta de 100uL  
Calibrador

#### *3.1.2.5 Reactivos e insumos*

Ácido clorhídrico  
Cloruro férrico  
Alcohol amílico  
Cinta de magnesio  
Reactivo de Dragendorff  
Reactivo de Baljet  
Anhidro acético  
Cloroformo  
Agua destilada estéril  
Agua destilada  
Etanol  
Estroptomicina  
Cloranfenicol

PDA

Fungicida Tiabendazol

Fungicida Fludioxonil

### *3.1.2.6 Materiales y Equipos de oficina*

Computadora

Hojas

Impresora

### *3.1.2.7 Material biológico*

Hojas de *Juglans neotropica*

Semillas de *Persea americana*.

Cepas de *Fusarium solani*

Cepas de *Fusarium oxysporum*.

### **3.1.3 Tipo de investigación**

La presente investigación es de tipo experimental, ya que busca la relación entre causas y efectos a partir de un estricto protocolo de control. Tiene como base el análisis estadístico para poder comprobar o refutar la hipótesis de que el fungicida natural de extractos de *Juglans neotropica* y *Persea americana* presentan efectos antifúngicos frente a *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*.

### **3.1.4 Identificación de la variable**

#### *3.1.4.1 Variable dependiente*

Crecimiento micelial de *Fusarium solani*.

Crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum*.

### 3.1.4.2 *Variable independiente*

Fungicida natural a partir de los extractos acuosos de nogal (*Juglans neotropica*) y aguacate (*Persea americana*).

Fungicida natural a partir de los extractos etanolicos de nogal (*Juglans neotropica*) y aguacate (*Persea americana*).

Fungicidas químicos Tiabendazol y Fludioxonil.

### 3.1.5 *Análisis de datos*

#### 3.1.5.1 *Diseño experimental*

El diseño experimental que se usó fue un diseño completo al azar factorial con tres repeticiones para cada concentración, se usó cinco concentraciones del extracto etanólico y acuoso de *Persea americana* y *Juglans neotropica* con un testigo, de igual forma se usó un DCA factorial para los fungicidas a diferencia que aquí se usó 4 concentraciones y un testigo este diseño fue usado tanto para *Fusarium solani* como para *Fusarium oxysporum*, los factores analizados fueron las especies, dosis y la separación de medias mediante el Test de Tukey al 5%.

#### 3.1.6 *Tratamientos de estudio*

Para determinar la actividad antifúngica in vitro de los extractos y fungicidas se usó el método de crecimiento micelial. Para ello se diseñaron 6 tratamientos para cada especie de *Fusarium*, para los extractos acuosos de aguacate y nogal se usaron las siguientes concentraciones 50%, 40%, 30%, 20% y 10% y 0% (Tabla 1-3 y Tabla 2-3). Para los extractos etanólicos de aguacate y nogal se diseñaron 6 tratamientos con las siguientes concentraciones 8%, 6%, 4%, 2%, 1% y 0% (Tablas 3-3 y Tabla 4-3). Se usaron los fungicidas comerciales Tiabendazol y Fludioxonil como testigos, aquí se diseñaron 5 tratamiento con las concentraciones de 100ppm, 10ppm, 1ppm, 0,1ppm y 0ppm para controlar *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* (Tabla 5-3 y Tabla 6-3).

**Tabla 1-3:** Códigos y descripciones de los tratamientos del extracto acuoso de *Juglans neotropica* que se evaluaron para *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*.

<b>Código</b>	<b>Descripción</b>
N1AFS	Tratamiento 1 extracto acuoso concentración 50% para <i>Fusarium solani</i>
N2AFS	Tratamiento 2 extracto acuoso concentración 40% para <i>Fusarium solani</i>
N3AFS	Tratamiento 3 extracto acuoso concentración 30% para <i>Fusarium solani</i>
N4AFS	Tratamiento 4 extracto acuoso concentración 20% para <i>Fusarium solani</i>
N5AFS	Tratamiento 5 extracto acuoso concentración 10% para <i>Fusarium solani</i>
N6AFS	Tratamiento 6 testigo para <i>Fusarium solani</i>
N1AFO	Tratamiento 1 extracto acuoso concentración 50% para <i>Fusarium oxysporum</i>
N2AFO	Tratamiento 2 extracto acuoso concentración 40% para <i>Fusarium oxysporum</i>
N3AFO	Tratamiento 3 extracto acuoso concentración 30% para <i>Fusarium oxysporum</i>
N4AFO	Tratamiento 4 extracto acuoso concentración 20% para <i>Fusarium oxysporum</i>
N5AFO	Tratamiento 5 extracto acuoso concentración 10% para <i>Fusarium oxysporum</i>
N6AFO	Tratamiento 6 testigo para <i>Fusarium oxysporum</i>

Realizado por: Peña Erika, 2023.

**Tabla 2-3:** Códigos y descripciones de los tratamientos del extracto acuoso de *Persea americana* que se evaluaron para *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*.

<b>Código</b>	<b>Descripción</b>
A1AFS	Tratamiento 1 extracto acuoso concentración 50% para <i>Fusarium solani</i>
A2AFS	Tratamiento 2 extracto acuoso concentración 40% para <i>Fusarium solani</i>
A3AFS	Tratamiento 3 extracto acuoso concentración 30% para <i>Fusarium solani</i>
A4AFS	Tratamiento 4 extracto acuoso concentración 20% para <i>Fusarium solani</i>
A5AFS	Tratamiento 5 extracto acuoso concentración 10% para <i>Fusarium solani</i>
A6AFS	Tratamiento 6 testigo para <i>Fusarium solani</i>
A1AFO	Tratamiento 1 extracto acuoso concentración 50% para <i>Fusarium oxysporum</i>
A2AFO	Tratamiento 2 extracto acuoso concentración 40% para <i>Fusarium oxysporum</i>
A3AFO	Tratamiento 3 extracto acuoso concentración 30% para <i>Fusarium oxysporum</i>
A4AFO	Tratamiento 4 extracto acuoso concentración 20% para <i>Fusarium oxysporum</i>
A5AFO	Tratamiento 5 extracto acuoso concentración 10% para <i>Fusarium oxysporum</i>
A6AFO	Tratamiento 6 testigo para <i>Fusarium oxysporum</i>

Realizado por: Peña Erika, 2023.

**Tabla 3-3:** Códigos y descripciones de los tratamientos del extracto etanólico de *Juglans neotropica* que se evaluaron para *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*.

<b>Código</b>	<b>Descripción</b>
N1EFS	Tratamiento 1 extracto alcohólico concentración 1% para <i>Fusarium solani</i>
N2EFS	Tratamiento 2 extracto alcohólico concentración 2% para <i>Fusarium solani</i>
N3EFS	Tratamiento 3 extracto alcohólico concentración 4% para <i>Fusarium solani</i>
N4EFS	Tratamiento 4 extracto alcohólico concentración 6% para <i>Fusarium solani</i>
N5EFS	Tratamiento 5 extracto alcohólico concentración 8% para <i>Fusarium solani</i>
N6EFS	Tratamiento 6 testigo para <i>Fusarium solani</i>
N1EFO	Tratamiento 1 extracto alcohólico concentración 1% para <i>Fusarium oxysporum</i>
N2EFO	Tratamiento 2 extracto alcohólico concentración 2% para <i>Fusarium oxysporum</i>
N3EFO	Tratamiento 3 extracto alcohólico concentración 4% para <i>Fusarium oxysporum</i>
N4EFO	Tratamiento 4 extracto alcohólico concentración 6% para <i>Fusarium oxysporum</i>
N5EFO	Tratamiento 5 extracto alcohólico concentración 8% para <i>Fusarium oxysporum</i>
N6EFO	Tratamiento 6 testigo para <i>Fusarium oxysporum</i>

Realizado por: Peña Erika, 2023.

**Tabla 4-3:** Códigos y descripciones de los tratamientos del extracto etanólico de *Persea americana* que se evaluaron para *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*.

<b>Código</b>	<b>Descripción</b>
A1EFS	Tratamiento 1 extracto alcohólico concentración 1% para <i>Fusarium solani</i>
A2EFS	Tratamiento 2 extracto alcohólico concentración 2% para <i>Fusarium solani</i>
A3EFS	Tratamiento 3 extracto alcohólico concentración 4% para <i>Fusarium solani</i>
A4EFS	Tratamiento 4 extracto alcohólico concentración 6% para <i>Fusarium solani</i>
A5EFS	Tratamiento 5 extracto alcohólico concentración 8% para <i>Fusarium solani</i>
A6EFS	Tratamiento 6 testigo para <i>Fusarium solani</i>
A1EFO	Tratamiento 1 extracto alcohólico concentración 1% para <i>Fusarium oxysporum</i>
A2EFO	Tratamiento 2 extracto alcohólico concentración 2% para <i>Fusarium oxysporum</i>
A3EFO	Tratamiento 3 extracto alcohólico concentración 4% para <i>Fusarium oxysporum</i>
A4EFO	Tratamiento 4 extracto alcohólico concentración 6% para <i>Fusarium oxysporum</i>
A5EFO	Tratamiento 5 extracto alcohólico concentración 8% para <i>Fusarium oxysporum</i>
A6EFO	Tratamiento 6 testigo para <i>Fusarium oxysporum</i>

Realizado por: Peña Erika, 2023.

**Tabla 5-3:** Códigos y descripciones de los tratamientos del fungicida fludioxonil que se evaluaron para *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*.

<b>Código</b>	<b>Descripción</b>
F1CFS	Tratamiento 1 fungicida fludioxonil concentración 100ppm para <i>Fusarium solani</i>
F2CFS	Tratamiento 2 fungicida fludioxonil concentración 10ppm para <i>Fusarium solani</i>
F3CFS	Tratamiento 3 fungicida fludioxonil concentración 1ppm para <i>Fusarium solani</i>
F4CFS	Tratamiento 4 fungicida fludioxonil concentración 0.1ppm para <i>Fusarium solani</i>
F5CFS	Tratamiento 5 testigo para <i>Fusarium solani</i>
F1CFO	Tratamiento 1 fungicida fludioxonil concentración 100ppm para <i>Fusarium oxysporum</i>
F2CFO	Tratamiento 2 fungicida fludioxonil concentración 10ppm para <i>Fusarium oxysporum</i>
F3CFO	Tratamiento 3 fungicida fludioxonil concentración 1ppm para <i>Fusarium oxysporum</i>
F4CFO	Tratamiento 4 fungicida fludioxonil concentración 0.1ppm para <i>Fusarium oxysporum</i>
F5CFO	Tratamiento 5 testigo para <i>Fusarium oxysporum</i>

Realizado por: Peña Erika, 2023.

**Tabla 6-3:** Códigos y descripciones de los tratamientos del fungicida tiabendazol que se evaluaron para *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*.

<b>Código</b>	<b>Descripción</b>
F1CFS	Tratamiento 1 fungicida tiabendazol concentración 100ppm para <i>Fusarium solani</i>
F2CFS	Tratamiento 2 fungicida tiabendazol concentración 10ppm para <i>Fusarium solani</i>
F3CFS	Tratamiento 3 fungicida tiabendazol concentración 1ppm para <i>Fusarium solani</i>
F4CFS	Tratamiento 4 fungicida tiabendazol concentración 0.1ppm para <i>Fusarium solani</i>
F5CFS	Tratamiento 5 testigo para <i>Fusarium solani</i>
F1CFO	Tratamiento 1 fungicida tiabendazol concentración 100ppm para <i>Fusarium oxysporum</i>
F2CFO	Tratamiento 2 fungicida tiabendazol concentración 10ppm para <i>Fusarium oxysporum</i>
F3CFO	Tratamiento 3 fungicida tiabendazol concentración 1ppm para <i>Fusarium oxysporum</i>
F4CFO	Tratamiento 4 fungicida tiabendazol concentración 0.1ppm para <i>Fusarium oxysporum</i>
F5CFO	Tratamiento 5 testigo para <i>Fusarium oxysporum</i>

Realizado por: Peña Erika, 2023.

Para determinar la concentración letal 50 (CL50) se diseñaron 6 tratamientos para los extractos etanólicos de aguacate y nogal con las siguientes concentraciones 2 mL, 1 mL, 0,2 mL, 0,1 mL, 0,02 mL y 0mL (Tablas 7-3 y Tabla 8-3). Para los fungicidas comerciales Tiabendazol y Fludioxonil se diseñaron 5 tratamiento con las concentraciones de 100ppm, 10ppm, 1ppm, 0,1ppm y 0ppm (Tabla 9-3 y Tabla 10-3).

**Tabla 7-3:** Códigos y descripciones de los tratamientos del extracto etanólico de *Juglans neotropica* que se evaluaron para determinar la concentración letal 50.

<b>Código</b>	<b>Descripción</b>
N1EFS	Tratamiento 1 extracto alcohólico concentración 2 mL para <i>Fusarium solani</i>
N2EFS	Tratamiento 2 extracto alcohólico concentración 1 mL para <i>Fusarium solani</i>
N3EFS	Tratamiento 3 extracto alcohólico concentración 0,2 mL para <i>Fusarium solani</i>
N4EFS	Tratamiento 4 extracto alcohólico concentración 0,1 mL para <i>Fusarium solani</i>
N5EFS	Tratamiento 5 extracto alcohólico concentración 0,02 mL para <i>Fusarium solani</i>
N6EFS	Tratamiento 6 testigo para <i>Fusarium solani</i>
N1EFO	Tratamiento 1 extracto alcohólico concentración 2 mL para <i>Fusarium oxysporum</i>
N2EFO	Tratamiento 2 extracto alcohólico concentración 1 mL para <i>Fusarium oxysporum</i>
N3EFO	Tratamiento 3 extracto alcohólico concentración 0,2 mL para <i>Fusarium oxysporum</i>
N4EFO	Tratamiento 4 extracto alcohólico concentración 0.1 mL para <i>Fusarium oxysporum</i>
N5EFO	Tratamiento 5 extracto alcohólico concentración 0.02 mL para <i>Fusarium oxysporum</i>
N6EFO	Tratamiento 6 testigo para <i>Fusarium oxysporum</i>

Realizado por: Peña Erika, 2023.

**Tabla 8-3:** Códigos y descripciones de los tratamientos del extracto etanólico de *Persea americana* que se evaluaron para determinar la concentración letal 50.

<b>Código</b>	<b>Descripción</b>
A1EFS	Tratamiento 1 extracto alcohólico concentración 2 mL para <i>Fusarium solani</i>
A2EFS	Tratamiento 2 extracto alcohólico concentración 1 mL para <i>Fusarium solani</i>
A3EFS	Tratamiento 3 extracto alcohólico concentración 0,2 mL para <i>Fusarium solani</i>
A4EFS	Tratamiento 4 extracto alcohólico concentración 0,1 mL para <i>Fusarium solani</i>
A5EFS	Tratamiento 5 extracto alcohólico concentración 0,02 mL para <i>Fusarium solani</i>
A6EFS	Tratamiento 6 testigo para <i>Fusarium solani</i>
A1EFO	Tratamiento 1 extracto alcohólico concentración 2 mL para <i>Fusarium oxysporum</i>
A2EFO	Tratamiento 2 extracto alcohólico concentración 1 mL para <i>Fusarium oxysporum</i>
A3EFO	Tratamiento 3 extracto alcohólico concentración 0,2 mL para <i>Fusarium oxysporum</i>
A4EFO	Tratamiento 4 extracto alcohólico concentración 0.1 mL para <i>Fusarium oxysporum</i>
A5EFO	Tratamiento 5 extracto alcohólico concentración 0.02 mL para <i>Fusarium oxysporum</i>
A6EFO	Tratamiento 6 testigo para <i>Fusarium oxysporum</i>

Realizado por: Peña Erika, 2023.

**Tabla 9-3:** Códigos y descripciones de los tratamientos del fungicida fludioxonil que se evaluaron para determinar la concentración letal 50.

<b>Código</b>	<b>Descripción</b>
F1CFS	Tratamiento 1 fungicida fludioxonil concentración 100ppm para <i>Fusarium solani</i>
F2CFS	Tratamiento 2 fungicida fludioxonil concentración 10ppm para <i>Fusarium solani</i>
F3CFS	Tratamiento 3 fungicida fludioxonil concentración 1ppm para <i>Fusarium solani</i>
F4CFS	Tratamiento 4 fungicida fludioxonil concentración 0.1ppm para <i>Fusarium solani</i>
F5CFS	Tratamiento 5 testigo para <i>Fusarium solani</i>
F1CFO	Tratamiento 1 fungicida fludioxonil concentración 100ppm para <i>Fusarium oxysporum</i>
F2CFO	Tratamiento 2 fungicida fludioxonil concentración 10ppm para <i>Fusarium oxysporum</i>
F3CFO	Tratamiento 3 fungicida fludioxonil concentración 1ppm para <i>Fusarium oxysporum</i>
F4CFO	Tratamiento 4 fungicida fludioxonil concentración 0.1ppm para <i>Fusarium oxysporum</i>
F5CFO	Tratamiento 5 testigo para <i>Fusarium oxysporum</i>

Realizado por: Peña Erika, 2023.

**Tabla 10-3:** Códigos y descripciones de los tratamientos del fungicida tiabendazol que se evaluaron para determinar la concentración letal 50.

<b>Código</b>	<b>Descripción</b>
F1CFS	Tratamiento 1 fungicida tiabendazol concentración 100ppm para <i>Fusarium solani</i>
F2CFS	Tratamiento 2 fungicida tiabendazol concentración 10ppm para <i>Fusarium solani</i>
F3CFS	Tratamiento 3 fungicida tiabendazol concentración 1ppm para <i>Fusarium solani</i>
F4CFS	Tratamiento 4 fungicida tiabendazol concentración 0.1ppm para <i>Fusarium solani</i>
F5CFS	Tratamiento 5 testigo para <i>Fusarium solani</i>
F1CFO	Tratamiento 1 fungicida tiabendazol concentración 100ppm para <i>Fusarium oxysporum</i>
F2CFO	Tratamiento 2 fungicida tiabendazol concentración 10ppm para <i>Fusarium oxysporum</i>
F3CFO	Tratamiento 3 fungicida tiabendazol concentración 1ppm para <i>Fusarium oxysporum</i>
F4CFO	Tratamiento 4 fungicida tiabendazol concentración 0.1ppm para <i>Fusarium oxysporum</i>
F5CFO	Tratamiento 5 testigo para <i>Fusarium oxysporum</i>

Realizado por: Peña Erika, 2023.

### 3.1.7 Fase de campo

#### 3.1.7.1 Recolección de muestras

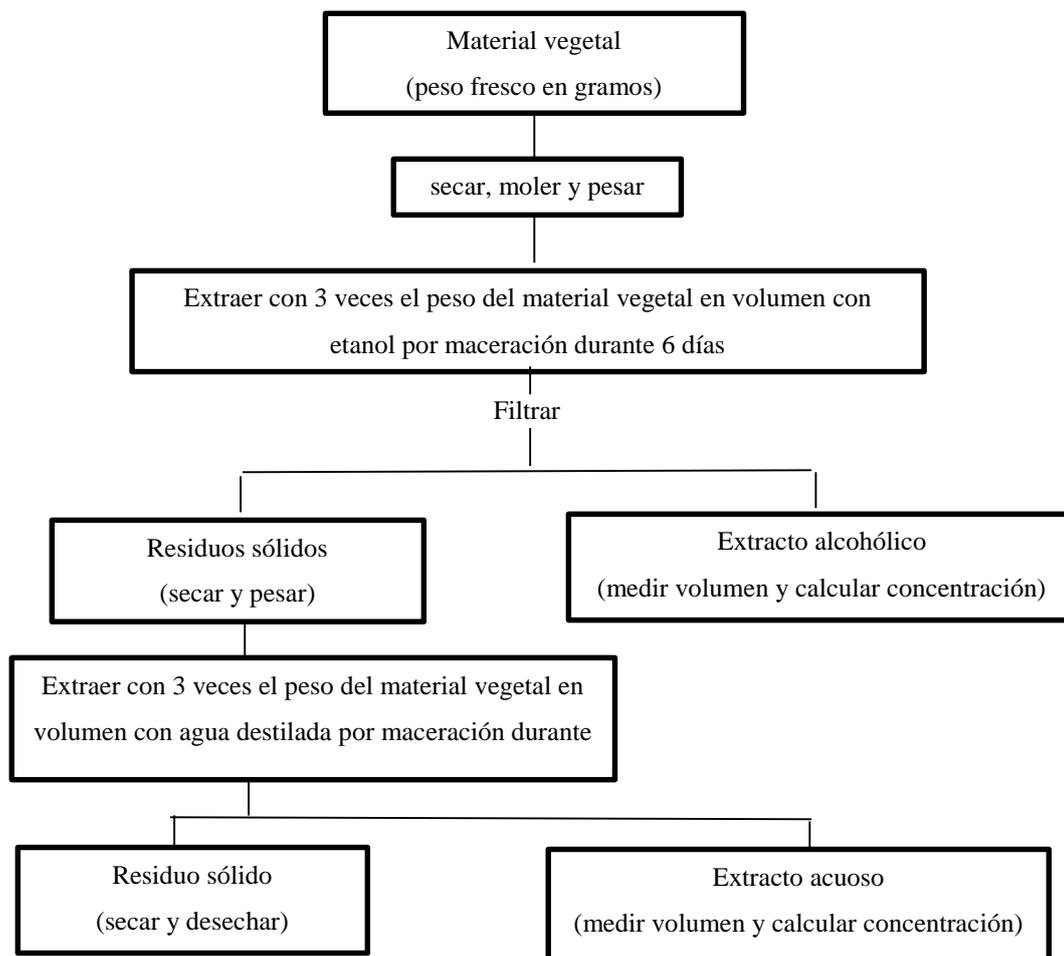
La recolección de las muestras botánicas se realizó en la Provincia de Tungurahua en el sector de Las Viñas perteneciente a la parroquia de Picaigua, en el sitio se identificó a las especies frutales y se tomó una muestra fértil de cada especie con la ayuda de una tijera de podar, las muestras se

guardaron en una funda de basura y se etiqueto debidamente cada muestra para no confundirlas. Luego de haber recolectado las muestras se procedió a herborizar y se comenzó a realizar los trámites de permiso de investigación en el Ministerio del Ambiente y Transición Ecológica para poder llevar dichas muestras al herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH).

#### 3.1.7.2 *Identificación de las muestras botánicas*

Teniendo las muestras herborizadas y el permiso del Ministerio del Ambiente y Transición Ecológica se procedió a la identificación en el Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Donde se comparó las muestras existentes del herbario con las recolectadas dando como resultado que las muestras que se recolecto si eran de *Persea americana* y de *Juglans neotropica*.

### 3.1.8 Obtención de extractos etanólicos y acuosos



**Ilustración 3-3:** Diagrama del proceso que se realiza para obtener los extractos etanólicos y acuosos.

**Realizado por:** Peña Erika, 2023.

#### 3.1.8.1 Limpieza, desinfección y selección

En el laboratorio de Productos Naturales se realizó la limpieza, desinfección y selección del material vegetal. Para el nogal (*Juglans neotropica*) en la limpieza se usó un cepillo de cerdas suaves para quitar el polvo y los insectos que se pudieran encontrar en las hojas, luego se usaron toallitas húmedas para volver a limpiar y quitar bien el polvo que se quedó en las hojas y para finalizar se empezó a seleccionar las mejores hojas. Para las semillas de aguacate (*Persea americana*) se procedió descascarando estas, ya teniendo descascaradas se escogió el mejor material, seleccionado el material se procedió a realizar cortes finos en las semillas de aguacate con un estilete.

### 3.1.8.2 *Secado*

Para el secado como primer paso se usó una balanza analítica, el peso fresco de las hojas de nogal (*Juglans neotropica*) fue de 200 gramos, después de haber pesado las hojas a estas se las puso en una bandeja de la estufa, las hojas se las dejó secar por 24 horas a una temperatura de 50°C. Al día siguiente volvimos a pesar las hojas siguiendo el mismo procedimiento y se obtuvo un peso seco de 75.6 gramos.

De igual forma se pesaron las semillas de aguacate (*Persea americana*) obteniendo un peso fresco de 200g, luego a las pepas se les puso en una bandeja de la estufa y se las dejó secar por 24 horas a temperatura de 50°C, se pesó al día siguiente las pepas de aguacate obteniendo un peso seco de 103.3 gramos.

### 3.1.8.3 *Molienda*

Se realizó el procedimiento de molienda para esto se limpió el molino con una franela y alcohol para evitar cualquier impureza que pueda contaminar las muestras, limpio esto se procedió a colocar una funda en el molino donde iba a caer el material vegetal, se encendió el molino y se comenzó a colocar poco a poco el material vegetal hasta tener todo el material molido, cuando se terminó de moler se dejó limpiando de igual forma el molino como anteriormente se dijo. Este proceso fue realizado tanto para las hojas de nogal como para las pepas de aguacate.

### 3.1.8.4 *Preparación de extracto etanólico.*

Se peso 73,5 g de las hojas de nogal molidas, este material vegetal se colocó dentro de un frasco de vidrio, con la ayuda de una probeta se colocó 490 mL de etanol cubriendo así el material vegetal por lo menos tres dedos por encima de este. Se peso 101,7 g de las pepas de aguacate molidas, de igual forma se las coloco en un frasco de vidrio para luego agregar 305 mL de etanol.

### 3.1.8.5 *Sonicación*

Para finalizar se sometió el extracto en el sonicador por media hora debido a que esto ayuda que las paredes celulares se rompan más rápido con las vibraciones que emana

### 3.1.8.6 *Maceración y filtración del extracto*

Luego de sacar los frascos del sonicador se los envolvió con papel aluminio y se lo dejó por seis días en una zona oscura a temperatura ambiente tanto para el extracto de nogal como para el extracto de aguacate. Después de haber transcurrido los 6 días se realizó una filtración al vacío, para eso se usó una bomba de vacío, un embudo Buchner, un Kitasato de 1000 mL y papel filtro, en el papel filtro se realizó una circunferencia del tamaño del embudo para que no se filtre la materia vegetal, se realizaron agitaciones al frasco para que toda la materia orgánica salga junto con el extracto, luego de unos minutos se obtuvieron los extracto etanólico, se obtuvo 450ml del extracto de nogal y 280 mL del extracto de aguacate.

### 3.1.8.7 *Concentración de los extractos*

Se usó un rotavapor el cual ayuda a que el extracto se separe del etanol haciendo que este se destile en un balón esmerilado de 1000 mL, los extractos estuvieron sometido a una temperatura de 58°C y a una velocidad de rotación de 70rpm por 20 minutos. De este proceso se obtuvo 48ml de extracto de aguacate (*Persea americana*) y 74.5 mL de extracto etanólico de nogal (*Juglans neotropica*). Los extractos fueron conservados y etiquetados en frascos ámbar de 125 mL.

### 3.1.8.8 *Preparación del extracto acuoso*

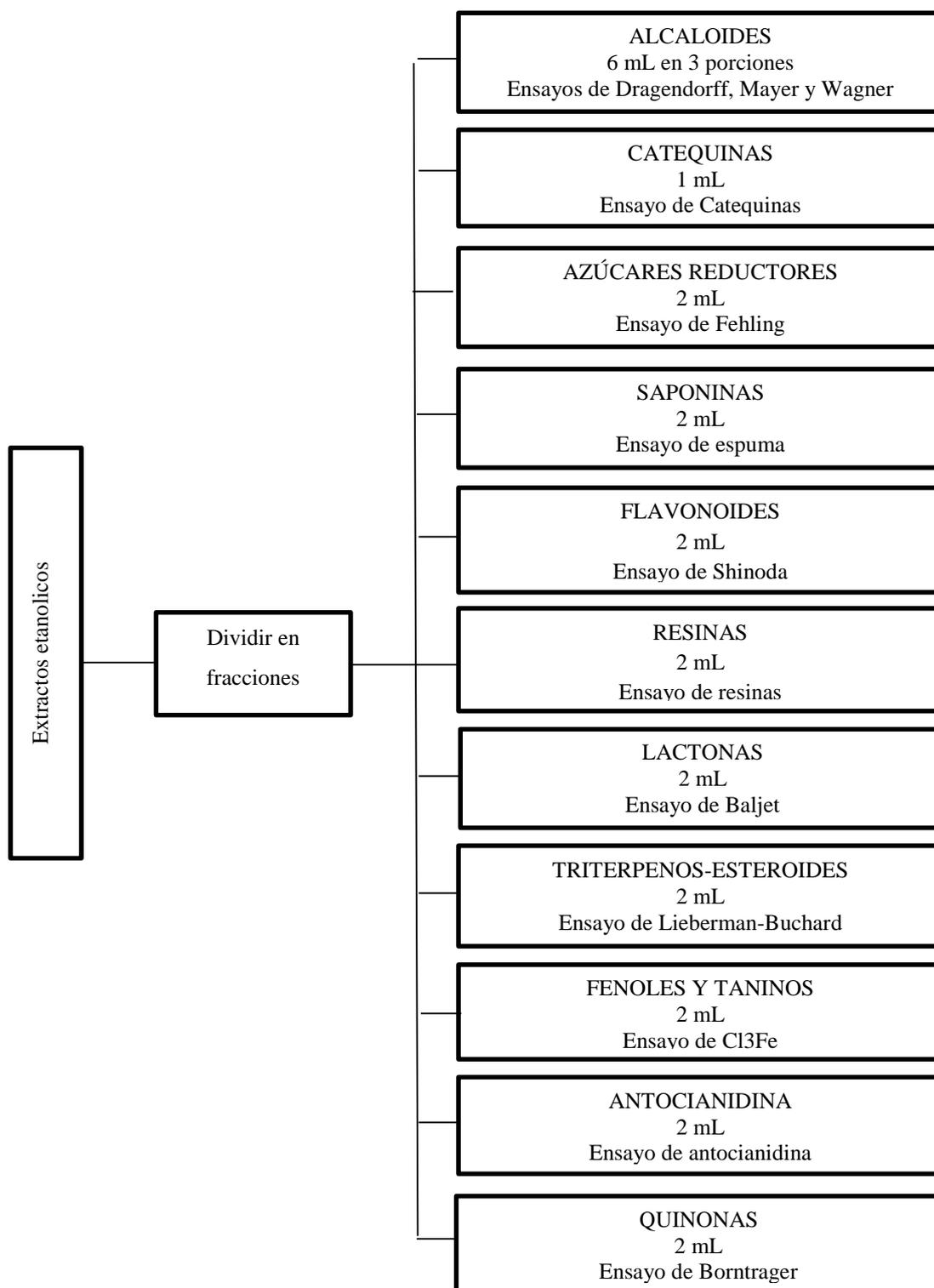
El material vegetal para realizar el extracto acuoso se obtuvo a partir del residuo sólido del extracto etanólico, se colocó en papel aluminio el residuo del material vegetal y se metió a la estufa por tres horas a una temperatura de 50°C hasta que estuvo seco. Cuando estuvo seco el material vegetal se pesó teniendo un peso de 86,2 g, se colocó el material vegetal dentro de un frasco de vidrio con 650 mL de agua destilada y se lo dejó macerar por 6 días. De igual forma se pesó el material vegetal de las semillas de aguacate teniendo un peso de 95,6 g se colocó dentro del frasco de vidrio con 350 mL de agua destilada. Luego fueron llevados al sonicador por 30 minutos.

### 3.1.8.9 *Maceración y filtración del extracto*

Se envolvió con papel aluminio a los frascos y se les dejó en un lugar oscuro a temperatura ambiente por 6 días. Por último, se realizó una filtración al vacío como se hizo anteriormente con los extractos etanólicos, los extractos fueron conservado en frascos ámbar.

### 3.1.9 Tamizaje químico

#### 3.1.9.1 Tamizaje químico de extractos etanólicos



**Ilustración 4-3:** Esquema de las reacciones que se realizan para determinar los metabolitos secundarios en los extractos etanólicos.

Realizado por: Peña Erika, 2023.

**Ensayo de Dragendorff:** Permite determinar la presencia de alcaloides en el extracto, por lo tanto, si parte del extracto se disuelve en un solvente orgánico (etanol), se debe evaporar a baño maría y el resto se debe disolver en 1 ml al 1%. Solución acuosa de ácido clorhídrico. Si se tiene en cuenta la blancura (+), la turbidez (++) , la precipitación (+++), añadir 3 gotas de reactivo de Dragendorff a la solución (Miranda, 2006).

**Ensayo de Mayer:** Continúe como se indicó anteriormente hasta obtener una solución ácida. Agregue un poco de polvo de cloruro de sodio, agite bien y filtre. Si se observan precipitados con opalescencia (+), Turbidez definida (++) , precipitado coposo (+++), agregar 2 o 3 gotas de solución de reactivo de Mayer (Miranda, 2006).

**Ensayo de Wagner:** Como en el caso anterior, se divide la solución ácida agregando 2 o 3 gotas del reactivo, y si se observa opalescencia (+), Turbidez definida (++) , precipitado coposo (+++) (Miranda, 2006).

**Ensayo de catequinas:** Para ello, tome una gota de solución de alcohol con un capilar y colóquela en papel de filtro. Aplica una solución de carbonato de sodio sobre la mancha. Una mancha de color marrón verdoso bajo luz ultravioleta indica una prueba positiva (Miranda, 2006).

**Ensayo de Fehling:** Permite determinar la presencia de azúcares reductores en el extracto. Para ello, si parte del extracto no está en agua, se debe evaporar el solvente al baño maría y el resto se debe disolver en 1-2 ml de agua. Añadir 2 ml de los reactivos Fehling A y Fehling B y calentar la mezcla al baño maría durante 5-10 minutos. La prueba se considera positiva si la solución se vuelve roja o aparece un precipitado rojo (Miranda, 2006).

**Ensayo de la espuma:** Esto permite reconocer internamente la presencia de saponinas esteroides y triterpenoides. Por tanto, si la alícuota está en alcohol, dilúyala a 5 volúmenes con agua y agite la mezcla enérgicamente durante 5-10 minutos. La prueba se considera positiva si se forma espuma en la superficie del líquido, que es mayor de 2 mm y persiste por más de 2 minutos (Miranda, 2006).

**Ensayo de Shinoda:** Permite determinar la presencia de flavonoides en extractos vegetales. Si parte del extracto está en alcohol, diluir con 1 ml de ácido clorhídrico concentrado y una pequeña tira de magnesio metálico. Al final de la reacción esperar 5 minutos, agregar 1 ml de pentanol, mezclar las fases y dejar que se separen. Positivo si el alcohol amílico tiene un color amarillo, naranja, marrón o rojo; intenso en todos los casos (Miranda, 2006).

**Ensayo de resinas:** Para determinar los siguientes compuestos, agregue 2 ml de solución de alcohol seguido de 10 ml de agua destilada. La presencia de sedimento indica una prueba positiva (Miranda, 2006).

**Ensayo de Baljet:** Detecta compuestos con agregación de lactonas en extractos, especialmente cumarina, aunque otros compuestos de lactonas pueden dar resultados positivos. Si parte del extracto está en alcohol, agregar 1 ml de reactivo de Baljet, teniendo en cuenta la aparición de coloración roja o precipitado (++) y (+++) como prueba positiva (Miranda, 2006).

**Ensayo de Liebermann-Burchard:** Dado que ambos tipos de productos tienen un núcleo de androstano insaturado, generalmente ubicado en el anillo B y en la posición 5-6, es posible detectar la presencia de triterpenos y/o esteroides en el extracto (Miranda, 2006).

Miranda (2006) planteó que para ello se debe tomar una alícuota de 2 ml del extracto y evaporar el solvente en un baño de agua y redissolver el residuo en 1 ml de cloroformo. Añadir 1 ml de anhídrido acético y mezclar bien. Deje caer 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado en la pared del tubo de ensayo sin mezclar. Resultados positivos de la prueba con cambio de color rápido:

1- El rosa y el azul son muy rápidos.

2- color verde claramente visible, aunque a alta velocidad. 3-La reacción al final de la reacción es verde oscuro-negra.

A veces, la prueba es de dos pasos o cromogénica. Los primeros cambios rara vez se notan. Un tercer tipo de cambio suele ocurrir cuando el material de prueba contiene grandes cantidades de estos compuestos (Miranda, 2006).

**Ensayo del cloruro férrico:** Miranda (2006) dice que se puede identificar la presencia de compuestos fenólicos o taninos en extractos de plantas, dijo. Si el extracto de la planta se elabora con alcohol, la prueba identifica tanto los fenoles como los taninos. Añadir 3 gotas de solución salina de cloruro férrico al 5% (0,9% NaCl en agua) a una alícuota del extracto alcohólico. Una prueba positiva puede proporcionar la siguiente información general:

Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.

Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.

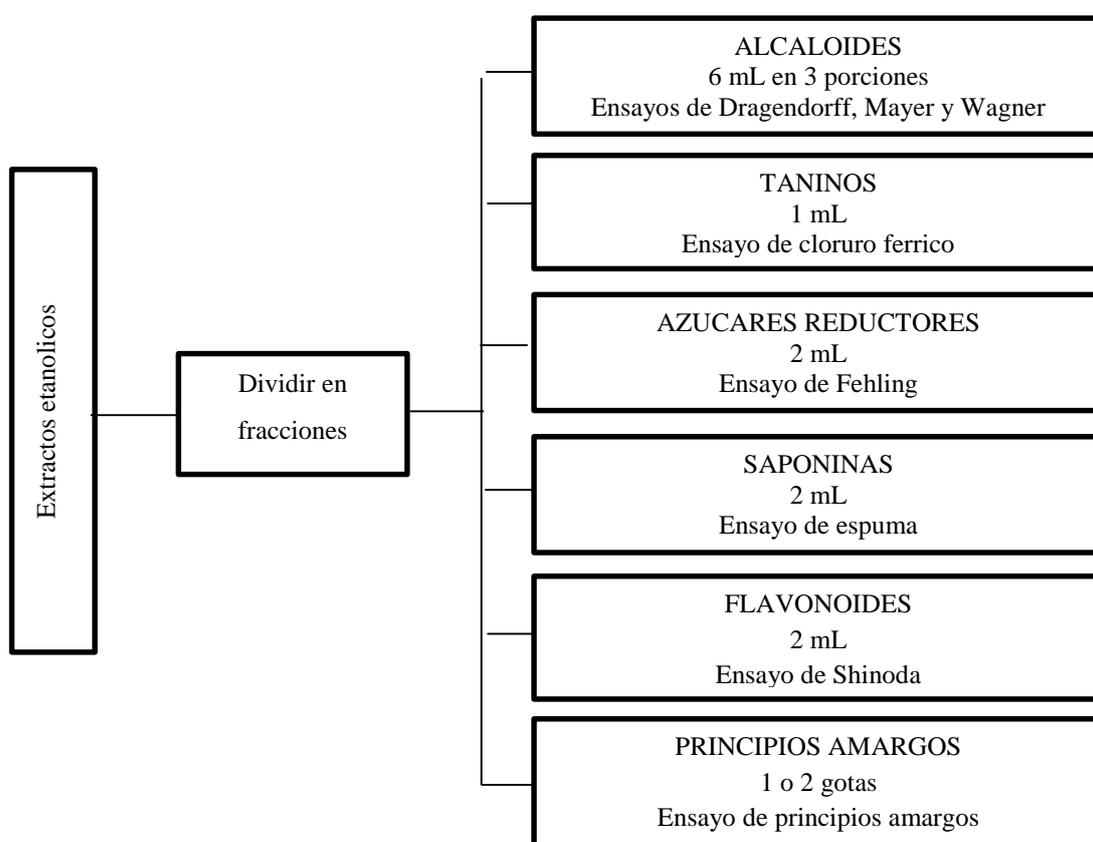
Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos.

**Ensayo de antocianidinas:** Determina la presencia de la estructura secuencial C6-C3-C6 en extractos vegetales de flavonoides. Calentar 2 mL del extracto de etanol con 1 mL de HCl durante 10 min. Dejar enfriar y agregar 1 ml de agua y 2 ml de pentanol. Esto se mezcló y las dos fases

se separaron. Una apariencia de rojo a marrón en la fase de pentilo indica un resultado positivo de la prueba (Miranda, 2006).

**Ensayo de Borntrager:** Le permite detectar la presencia de quinonas. Para ello, se debe evaporar una parte del extracto en un baño de agua y el resto se debe volver a disolver en 1 ml de cloroformo. Agregue 1 ml de hidróxido de sodio al 5%, hidróxido de potasio o hidróxido de amonio al agua. Las fases se combinaron mediante agitación y se dejaron reposar hasta la separación. La prueba se considera positiva si la fase de agua base (superior) es rosada o roja. Rosa (++) , Rojo (+++) (Miranda, 2006).

### 3.1.9.2 Tamizaje químico de extractos acuosos



**Ilustración 5-3.** Esquema de las reacciones que se realizan para determinar los metabolitos secundarios en los extractos acuosos.

Realizado por: Peña Erika, 2023.

**Ensayo de Dragendorff:** Permite determinar la presencia de alcaloides en el extracto. Para extractos acuosos, agregue una gota a una alícuota de ácido clorhídrico concentrado (caliente ligeramente y enfríe a pH). La prueba se realiza agregando 3 gotas de reactivo de Dragendorf a una solución acuosa ácida, si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++) (Miranda, 2006).

**Ensayo de Mayer:** Continúe como se indicó anteriormente hasta obtener una solución ácida. Se debe agregar un poco de polvo de cloruro de sodio, agitar bien y filtrar. Añadir 2-3 gotas de reactivo de Mayer, si se observa opalescencia (+), Turbidez definida (++), precipitado coposo (+++) (Miranda, 2006).

**Ensayo de Wagner:** Como en el caso anterior, se divide la solución ácida por la adición de 2 o 3 gotas del reactivo, se divide análogamente el resultado, si se observa opalescencia (+), Turbidez definida (++), precipitado coposo (+++) (Miranda, 2006).

**Ensayo del cloruro férrico:** Miranda (2006) dice que se permite determinar la presencia de compuestos fenólicos o taninos en extractos vegetales. En los extractos acuosos, el ensayo determina básicamente los taninos. Si el extracto se neutraliza con una alícuota de acetato de sodio y tres gotas de solución salina de cloruro férrico al 5%, una prueba positiva puede proporcionar la siguiente información general:

Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.

Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.

Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos.

**Ensayo de Fehling:** Permite determinar la presencia de azúcares reductores en el extracto. Para ello, utilice 2 ml de extracto, añada 2 ml de reactivo y caliente la mezcla al baño maría durante 5-10 minutos. La prueba se considera positiva si la solución se vuelve roja o aparece un precipitado rojo (Miranda, 2006).

**Ensayo de la espuma:** Esto permite reconocer internamente la presencia de saponinas esteroides y triterpenoides. Se diluye una parte alícuota del extracto con agua 5 veces más que su volumen y se agita vigorosamente la mezcla durante 5-10 minutos. La prueba se considera positiva si se forma espuma en la superficie del líquido, que es mayor de 2 mm y persiste por más de 2 minutos (Miranda, 2006).

**Ensayo de Shinoda:** Permite determinar la presencia de flavonoides en extractos vegetales. Los fragmentos se diluyeron con 1 ml de ácido clorhídrico concentrado y un pequeño trozo de cinta metálica de magnesio. Al final de la reacción esperar 5 minutos, agregar 1 ml de alcohol amílico, mezclar las fases y dejar que se separen. Positivo si el alcohol amílico tiene un color amarillo, naranja, marrón o rojo; intenso de todos los casos (Miranda, 2006).

**Ensayo de principios amargos y astringentes:** La prueba se realiza probando una gota de agua o extracto vegetal y probando los distintos sabores de cada ingrediente (Miranda, 2006).

### **3.1.10 Reactivación de los hongos**

Se realizó la reactivación de los hongos de *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Recursos Naturales perteneciente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Los hongos de *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* estuvieron en tratamientos de conservación con glicerol durante casi dos años en temperatura menor a -40°C, para realizar la reactivación de los hongos se escogieron 8 conservados en total, 4 de *Fusarium solani* y 4 de *Fusarium oxysporum*. Estos conservados fueron sacados del congelador y para que se descongelen fueron llevados a la incubadora por un día.

Luego se procedió a preparar los medios de cultivo para los hongos, se pesó 8,4g de papa dextrosa agar (PDA) en una balanza analítica esto se colocó dentro de una botella de vidrio de 250 mL para autoclave, aquí se mezcló con 200 mL de agua destilada y se agitó la botella para mezclar bien el PDA con el agua destilada, después de preparar el medio de cultivo se procedió a esterilizarlo en la autoclave a 120°C.

El medio de cultivo se dispuso en 8 cajas Petri al día siguiente, pero como el medio ya estaba gelatinizado se lo procedió a calentar en el microondas hasta que no presente grumos y este bien líquido. Luego de ya tener listo el medio se lo llevo a la cámara de flujo laminar, aquí con la ayuda de una micropipeta se colocó 2 mL de estreptomycin y 2 mL de cloranfenicol en el medio de cultivo a una concentración de 0.8% cada antibiótico. Ya listo el medio se procedió a dispensar en las cajas Petri.

En la tarde cuando el medio de cultivo ya estaba gelatinizado se realizó la siembra de los hongos en la cámara de flujo laminar donde se usó la técnica dúplex que consistió en poner dos pedazos del hongo conservado, se etiquetó a las cajas con el código de los conservados, fecha que se realizó este proceso, cuando se terminó de realizar esto se puso a los aislados en la incubadora a una temperatura de 25°C en condiciones de oscuridad. Después de 5 días se pudo observar el crecimiento de los hongos. A los ocho días de que se inició la reactivación de los hongos se procedió a realizar un repique de los hongos que se reactivaron.

### **3.1.11 Crecimiento micelial**

Se usó el método de crecimiento micelial en medios enmendados con los distintos productos en estudio, que consistió en diluir en el medio de cultivo los extractos vegetales y/o principios activos de los fungicidas para luego registrar el crecimiento cada 24h de los hongos durante varios días, comprobando así que los extractos vegetales o fungicidas inhiben el crecimiento de estos y si lo inhiben a que concentración lo hacen de mejor forma. El crecimiento micelial fue evaluado a las 24h, 48h, 120h y 144h. Para la concentración los fungicidas se calculó una solución stock.

### **3.1.12 Concentración letal 50**

En base a los datos obtenidos en el ensayo de crecimiento micelial se optó por usar solo los extractos etanólicos ya que estos controlaron de mejor forma el crecimiento micelial de los hongos, se realizó una regresión para los extractos etanólicos usando dosis de 2 mL, 1 mL; 0,2 mL; 0,1 mL; 0,02mL y 0mL. Para los fungicidas se continuó usando las mismas dosis. estos datos fueron evaluados a las 24h y 48h.

Para la concentración letal 50 se parte del crecimiento micelial que se tuvo en los medios enmendados y las concentraciones con las cuales se trabajó, luego se calculó el porcentaje (%) de inhibición que existió en cada dosis y repetición para luego calcular la CL<sub>50</sub> usando el programa R.v.4.2.1

$$\% \text{ Inhibición} = 100 - \left( \frac{DTM * 100}{DTT} \right)$$

Donde:

DTM: Diámetro total de la muestra a evaluar

DTT: Diámetro total del testigo

### **3.1.13 Rango de sensibilidad**

Se caracterizó de acuerdo con la CL<sub>50</sub> (mg/L) como: sensibles, levemente resistente, moderadamente resistente y resistente, con ayuda de la escala de sensibilidad propuesta por Edgington et al. (1970) se considera Sensible <1(mg/L) Levemente resistente 1 – 10(mg/L) Moderadamente resistente 10 – 50 (mg/L) Resistente >50 (mg/L)

## CAPÍTULO IV

### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 Procesamiento, análisis e interpretación de resultados

##### 4.1.1 Tamizaje químico del extracto etanólico de nogal (*Juglans neotropica*)

**Tabla 1-4:** Resultados del tamizaje químico del extracto etanólico de nogal.

ENSAYO	PRESENCIA	EXTRACTO ETANÓLICO
DRAGENDORFF	Alcaloides	Positivo (+ + +)
MAYER	Alcaloides	Positivo (+)
WAGNER	Alcaloides	Positivo (+ + +)
CATEQUINAS	Catequinas	Positivo (+)
FEHLING	Azúcares reductores	Positivo
ESPUMA	Saponinas	Positivo
SHINODA	Flavonoides	Negativo (-)
RESINAS	Resinas	Positivo
BALJET	Lactonas	Positivo (+ +)
LIEBERMAN-BUCHARD	Triterpenos-Esteroides	Positivo
Cl <sub>3</sub> Fe	Fenoles y Taninos	Positivo
ANTOCIANIDINA	Antocianidina	Negativo (-)
BORNTRAGER	Quinonas	Positivo

Realizado por: Peña Erika, 2023.

Se evaluaron diferentes ensayos para determinar la presencia de metabolitos secundarios en el extracto etanolico de nogal (*Juglans neotropica*), obteniendo un resultado positivo a los ensayos de Dragendorff, Mayer y Wagner determinando la presencia de alcaloides, de igual forma dio positivo al ensayo de Catequinas demostrando la presencia de catequinas en el extracto, el ensayo de Fehling dio positivo lo cual nos indica la presencia de azúcares reductores, en el ensayo de espuma se obtuvo un resultado positivo lo cual indica que contiene saponina, en el ensayo de Shinoda, se obtuvo un resultado negativo lo cual indica que no contiene flavonoides, se obtuvo un resultado positivo al ensayo de resinas, el ensayo de Baljet fue positivo para lactonas, dio positivo en el ensayo de Lieberman-Buchard lo que significa que existe triterpenos-esteroides, para la prueba de Cloruro férrico dio un resultado positivo evidenciando que existe fenoles y taninos en el extracto, en el ensayo de antocianidina se obtuvo un resultado negativo para dicho metabolito, y en el ensayo de Borntrager se obtuvo un resultado positivo para quinonas.

#### 4.1.2 Tamizaje químico del extracto acuoso de nogal (*Juglans neotropica*)

**Tabla 2-4:** Resultados del tamizaje químico del extracto acuoso de nogal.

<b>ENSAYO</b>	<b>PRESENCIA</b>	<b>EXTRACTO ACUOSO</b>
<b>DRAGENDORFF</b>	Alcaloides	Positivo (+ +)
<b>MAYER</b>	Alcaloides	Positivo (+)
<b>WAGNER</b>	Alcaloides	Positivo (+ + +)
<b>FEHLING</b>	Azúcares reductores	Positivo
<b>ESPUMA</b>	Saponinas	Positivo
<b>SHINODA</b>	Flavonoides	Positivo
<b>Cl<sub>3</sub>Fe</b>	Fenoles y Taninos	Positivo
<b>PRINCIPIOS AMARGOS</b>	Principios amaros	Sabor astringente

Realizado por: Peña Erika, 2023.

En la Tabla 2-4 se puede observar los resultados del tamizaje químico del extracto acuoso de nogal (*Juglans neotropica*), dio positivo a los ensayos de Dragendorff, Mayer, Wagner evidenciando la presencia de alcaloides, se obtuvo un resultado positivo para el ensayo de Fehling y de espuma dando como resultado la presencia de azúcares reductores y saponinas, las pruebas de Shinoda y Cl<sub>3</sub>Fe son positivas determinando la presencia de flavonoides, fenoles y taninos, y en el ensayo de principios amargos se obtuvo que el extracto posee un sabor astringente.

#### 4.1.3 Tamizaje químico del extracto etanólico de aguacate (*Persea americana*)

**Tabla 3-4:** Resultados del tamizaje químico del extracto etanólico de aguacate.

<b>ENSAYO</b>	<b>PRESENCIA</b>	<b>EXTRACTO ETANOLICO</b>
<b>DRAGENDORFF</b>	Alcaloides	Positivo (+ + +)
<b>MAYER</b>	Alcaloides	Positivo (+)
<b>WAGNER</b>	Alcaloides	Positivo (+ + +)
<b>CATEQUINAS</b>	Catequinas	Positivo (+)
<b>FEHLING</b>	Azúcares reductores	Positivo
<b>ESPUMA</b>	Saponinas	Positivo
<b>SHINODA</b>	Flavonoides	Positivo
<b>RESINAS</b>	Resinas	Positivo
<b>BALJET</b>	Lactonas	Positivo (+ + +)
<b>LIEBERMAN-BUCHARD</b>	Triterpenos-Esteroides	Positivo
<b>Cl<sub>3</sub>Fe</b>	Fenoles y Taninos	Positivo
<b>ANTOCIANIDINA</b>	Antocianidina	Positivo
<b>BORNTRAGER</b>	Quinonas	Positivo

Realizado por: Peña Erika, 2023.

En la tabla 3-4 se puede observar los resultados del tamizaje químico del extracto etanolico de aguacate. se obtuvo resultados positivos para los ensayos de Dragendorff, Mayer y Wagner comprobando la presencia de alcaloides; en los ensayos de catequinas, Fehling y espuma los resultados fueron positivos obteniendo la presencia de catequinas, azúcares reductores y saponinas; de igual forma los ensayos de Shinoda, resinas y Baljet dio positivo determinando la presencia de flavonoides, resinas y lactonas; se obtuvo un resultado positivo para los ensayos de Lieberman-Buchard, Cl<sub>3</sub>Fe, Antocianidina y Borntrager determinando que este extracto también contiene triterpenos-esteroides, fenoles y taninos, antocianidina y quinonas.

#### 4.1.4 Tamizaje químico del extracto acuoso de aguacate (*Persea americana*)

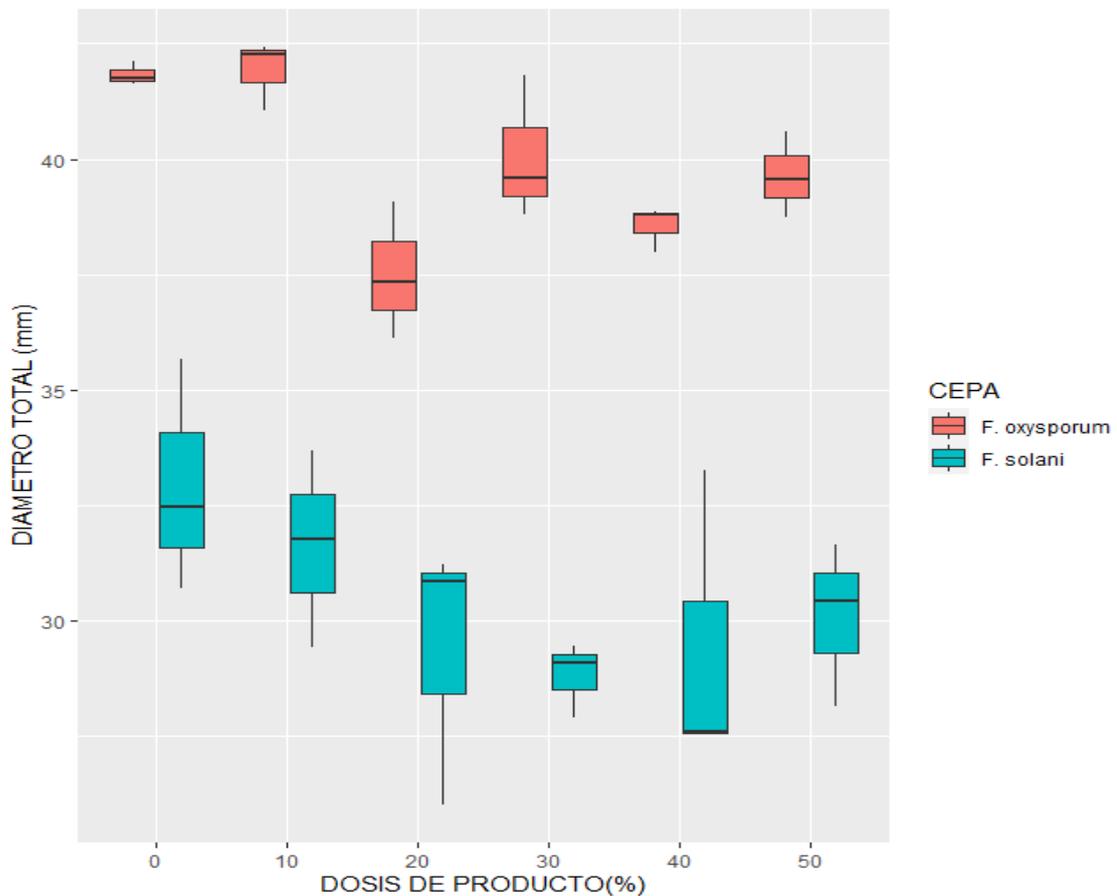
**Tabla 4-4:** Resultados del tamizaje químico del extracto acuoso de aguacate.

<b>ENSAYO</b>	<b>PRESENCIA</b>	<b>EXTRACTO ACUOSO</b>
<b>DRAGENDORFF</b>	Alcaloides	Positivo (+ + +)
<b>MAYER</b>	Alcaloides	Positivo (+)
<b>WAGNER</b>	Alcaloides	Positivo (+ + +)
<b>FEHLING</b>	Azúcares reductores	Positivo
<b>ESPUMA</b>	Saponinas	Negativo
<b>SHINODA</b>	Flavonoides	Positivo
<b>Cl<sub>3</sub>Fe</b>	Fenoles y Taninos	Positivo
<b>PRINCIPIOS AMARGOS</b>	Principios amaros	Sabor astringente

Realizado por: Peña Erika, 2023.

En la tabla 4-4 se puede visualizar los resultados del tamizaje químico del extracto acuoso de aguacate, realizando los ensayos se obtuvo un resultado positivo para las pruebas de Dragendorff, Mayer y Wagner dando como resultado la presencia de Alcaloides en el extracto, en el ensayo de Fehling su resultado fue positivo encontrando la presencia de azúcares reductores, en la prueba de espuma dio un resultado negativo lo cual indica que no contiene saponinas, en las pruebas de Shinoda y Cl<sub>3</sub>Fe los resultados fueron positivos lo que indica que contiene flavonoides, fenoles y taninos, y en el ensayo de principios amargo se obtuvo un sabor astringente.

**4.1.5 Crecimiento micelial de *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* en medio enmendado con extracto acuoso de aguacate a distintas concentraciones.**



**Ilustración 1-4:** Crecimiento micelial de *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* en medio enmendado de extracto acuoso de aguacate a distintas concentraciones.

Realizado por: Peña Erika, 2023

Se observó que el crecimiento micelial fue mayor en *Fusarium oxysporum* y menor en *Fusarium solani*, la dosis en la que se presentó mayor crecimiento micelial en *Fusarium solani* fue la dosis del 0% del extracto acuoso de aguacate y en la sé que presentó menor crecimiento fue en la dosis del 40% del extracto. En *Fusarium oxysporum* se pudo visualizar que la dosis del 10% del extracto acuoso de aguacate fue en la que presentó este hongo un mayor crecimiento micelial y la dosis del 20% del extracto es la que presentó un menor crecimiento micelial.

**Tabla 5-4:** Análisis de varianza del crecimiento micelial de *Fusarium solani* en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto acuoso de aguacate.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	PR(>F)
Concentración	5	37,56	7,513	1,329	0,316
Error	12	67,82	5,652		

Códigos de significancias: 0 \*\*\*\* 0,001 \*\*\* 0,01 \*\* 0,05 \* 0,1 ' ' 1

Realizado por: Peña Erika, 2023

**Tabla 6-4:** Análisis de varianza del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto acuoso de aguacate.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	PR(>F)
Concentración	5	46,32	9,265	8,779	0,00106 **
Error	12	12,66	1,055		

Códigos de significancias: 0 \*\*\*\* 0,001 \*\*\* 0,01 \*\* 0,05 \* 0,1 ' ' 1

Realizado por: Peña Erika, 2023

En el análisis de varianza (ANOVA) realizado a las concentraciones del extracto acuoso de aguacate se puede visualizar que no existe una diferencia significativa en las concentraciones que se usaron para controlar *Fusarium solani*, con un valor de 0,316 se demostró que las concentraciones que se emplearon contra dicha especie no varían en su crecimiento. En las concentraciones que se usó para controlar *Fusarium oxysporum* si se presenta diferencia significativa, con un valor de 0,00106 se demostró que las concentraciones empleadas contra dicha especie si varían en su crecimiento.

**Tabla 7-4:** Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de *Fusarium solani* en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto acuoso de aguacate.

Concentración	Diámetro total	Grupo
0%	32,95	a
10%	31,63	a
50%	30,08	a
40%	29,48	a
20%	29,37	a
30%	28,82	a

Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

Realizado por: Peña Erika, 2023.

**Tabla 8-4:** Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto acuoso de aguacate.

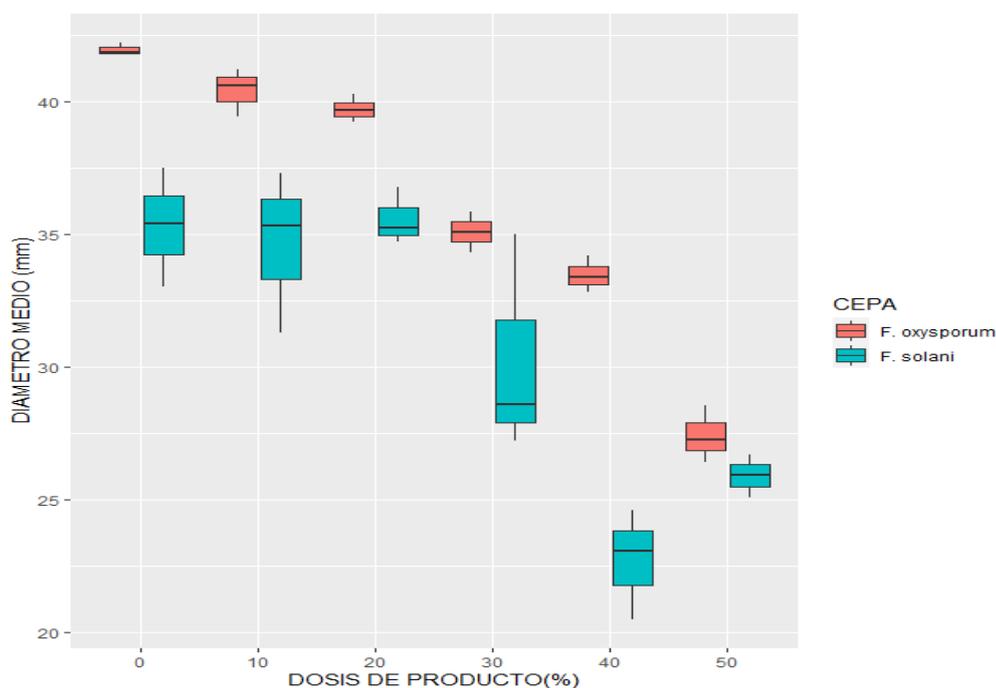
<b>Concentración</b>	<b>Diámetro total</b>	<b>Grupo</b>
0%	41,92	a
10%	41,84	a
50%	40,07	ab
40%	39,63	ab
20%	38,55	b
30%	37,52	b

Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

**Realizado por:** Peña Erika, 2023.

La prueba de Tukey al 5% para el extracto acuoso de aguacate en *Fusarium solani* mostro un solo grupo estadísticos “a” lo que quiere decir que el crecimiento micelial del hongo fue casi igual en todas las concentraciones, en la concentración del 0% fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (32,95 mm) y en la concentración del 30% fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (28,82 mm). En *Fusarium oxysporum* se mostró tres grupos estadísticos; en el grupo “a” se encuentran las concentraciones 0% y 10%; en el grupo “ab” se encuentran las concentraciones 50% y 40%; en el grupo “b” se encuentran las concentraciones 20% y 30, en la concentración del 0% fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (41,92 mm) y en la concentración del 30% fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (37,52 mm).

**4.1.6 Crecimiento micelial de *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* en medio enmendado con extracto acuoso de nogal a distintas concentraciones.**



**Ilustración 2-4:** Crecimiento micelial de *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* en medio enmendado de extracto acuoso de nogal a distintas concentraciones.

Realizado por: Peña Erika, 2023.

Se observó que el crecimiento micelial fue mayor en *Fusarium oxysporum* y menor en *Fusarium solani*, las dosis en la que se presentó mayor crecimiento micelial en *Fusarium solani* fue en las dosis del 0%, 10% y 20% (estas presentaron un crecimiento similar) del extracto acuoso de aguacate y en la sé que presentó menor crecimiento fue en la dosis del 40% del extracto. En *Fusarium oxysporum* se pudo visualizar que la dosis del 0% del extracto acuoso de aguacate fue en la que presentó este hongo un mayor crecimiento micelial y la dosis del 50% del extracto es la que presentó un menor crecimiento micelial.

**Tabla 9-4:** Análisis de varianza del crecimiento micelial de *Fusarium solani* en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto acuoso de nogal.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	PR(>F)
Concentración	5	442,8	88,55	14,1	0,000114 ***
Error	12	75,4	6,28		

Códigos de significancias: 0 \*\*\*\* 0,001 \*\*\* 0,01 \*\* 0,05 \* 0,1 . 1

Realizado por: Peña Erika, 2023.

**Tabla 10-4:** Análisis de varianza del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto acuoso de nogal.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	PR(>F)
Concentración	5	447,8	89,56	156,1	1,73e-10***
Error	12	6,9	0,57		

Códigos de significancias: 0 \*\*\*\* 0,001 \*\*\* 0,01 \*\* 0,05 \* 0,1 ' ' 1

Realizado por: Peña Erika, 2023.

En el análisis de varianza (ANOVA) realizado a las concentraciones del extracto acuoso de nogal se puede visualizar que existe una diferencia significativa en las concentraciones que se usaron para controlar *Fusarium solani*, con un valor de 0,000114 se demostró que las concentraciones que se emplearon contra dicha especie si varían en su crecimiento. En las concentraciones que se usó para controlar *Fusarium oxysporum* si se presenta diferencia significativa, con un valor de 1,73e-10 se demostró que las concentraciones empleadas contra dicha especie si varían en su crecimiento.

**Tabla 11-4:** Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de *Fusarium solani* en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto acuoso de nogal.

Concentración	Diámetro total	Grupo
20%	35,57	a
0%	35,31	a
10%	34,65	a
30%	30,27	ab
50%	25,90	bc
40%	22,71	c

Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

Realizado por: Peña Erika, 2023.

**Tabla 12-4:** Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto acuoso de nogal.

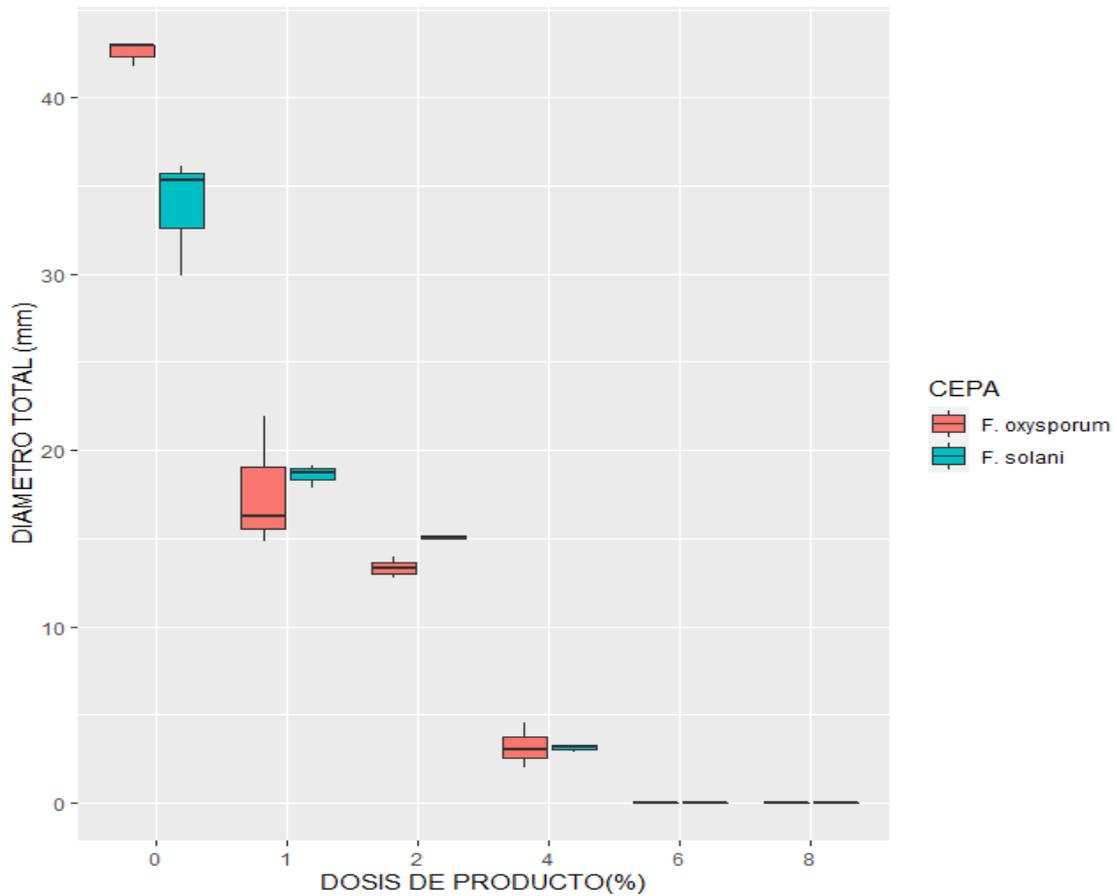
Concentración	Diámetro total	Grupo
0%	41,97	a
10%	40,41	ab
20%	39,72	b
30%	35,08	c
40%	33,46	c
50%	27,41	d

Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

Realizado por: Peña Erika, 2023.

La prueba de Tukey al 5% para el extracto acuoso de nogal en *Fusarium solani* se mostró cuatro grupos estadísticos; en el grupo “a” se encuentra las concentraciones 0% y 20%, en el grupo “ab” se encuentra la concentración 30%, en el grupo “bc” se encuentra la concentración 50% y en el grupo “c” se encuentran la concentración 40%; en la concentración del 20% fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (35,57 mm) y en la concentración del 40% fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (22,71 mm). En *Fusarium oxysporum* se mostró cinco grupos estadísticos; en el grupo “a” se encuentra la concentración 0%, en el grupo “ab” se encuentra la concentración 10%, en el grupo “b” se encuentran la concentración 20%, en el grupo “c” se encuentran las concentraciones 30% y 40%, en el grupo “d” se encuentran la concentración 50%; en la concentración del 0% fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (41,97 mm) y en la concentración del 50% fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (27,41 mm).

#### 4.1.7 Crecimiento micelial de *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* en medio enmendado con extracto etanólico de aguacate a distintas concentraciones



**Ilustración 3-4:** Crecimiento micelial de *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* en medio enmendado de extracto etanólico de aguacate a distintas concentraciones.

**Realizado por:** Peña Erika, 2023.

Se observa que el crecimiento micelial es parecido en las dos especies de *Fusarium*, la dosis en la que se presenta mayor crecimiento micelial en *Fusarium solani* es la dosis del 0% del extracto etanólico de aguacate y en la sé que presenta menor crecimiento es en las dosis del 6% y 8% del extracto. En *Fusarium oxysporum* se puede visualizar que la dosis del 0% del extracto etanólico de aguacate es en la que se presenta un mayor crecimiento micelial y las dosis del 6% y 8% del extracto es la que presenta menor crecimiento micelial.

**Tabla 13-4:** Análisis de varianza del crecimiento micelial de *Fusarium solani* en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto etanólico de aguacate.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	PR(>F)
Concentración	5	2681,3	536,3	271,7	6,54e-12***
Error	12	23,7	2		

Códigos de significancias: 0 \*\*\*\* 0,001 \*\*\* 0,01 \*\* 0,05 \* 0,1 ' ' 1

Realizado por: Peña Erika, 2023.

**Tabla 14-4:** Análisis de varianza del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto etanólico de aguacate.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	PR(>F)
Concentración	5	3991	798,2	291,3	4,32e-12***
Error	12	33	2,7		

Códigos de significancias: 0 \*\*\*\* 0,001 \*\*\* 0,01 \*\* 0,05 \* 0,1 ' ' 1

Realizado por: Peña Erika, 2023.

En el análisis de varianza (ANOVA) realizado a las concentraciones del extracto etanólico de aguacate se puede visualizar que existe una diferencia significativa en las concentraciones que se usaron para controlar *Fusarium solani*, con un valor de 6,54e-12 se demostró que las concentraciones que se emplearon contra dicha especie si varían en su crecimiento. En las concentraciones que se usó para controlar *Fusarium oxysporum* si se presenta diferencia significativa, con un valor de 4,32e-12 se demostró que las concentraciones empleadas contra dicha especie si varían en su crecimiento.

**Tabla 15-4:** Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de *Fusarium solani* en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto etanólico de aguacate.

Concentración	Diámetro total	Grupo
0%	33,79	a
1%	18,58	b
2%	15,05	b
4%	3,13	c
6%	0,00	c
8%	0,00	c

Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

Realizado por: Peña Erika, 2023.

**Tabla 16-4:** Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto etanólico de aguacate.

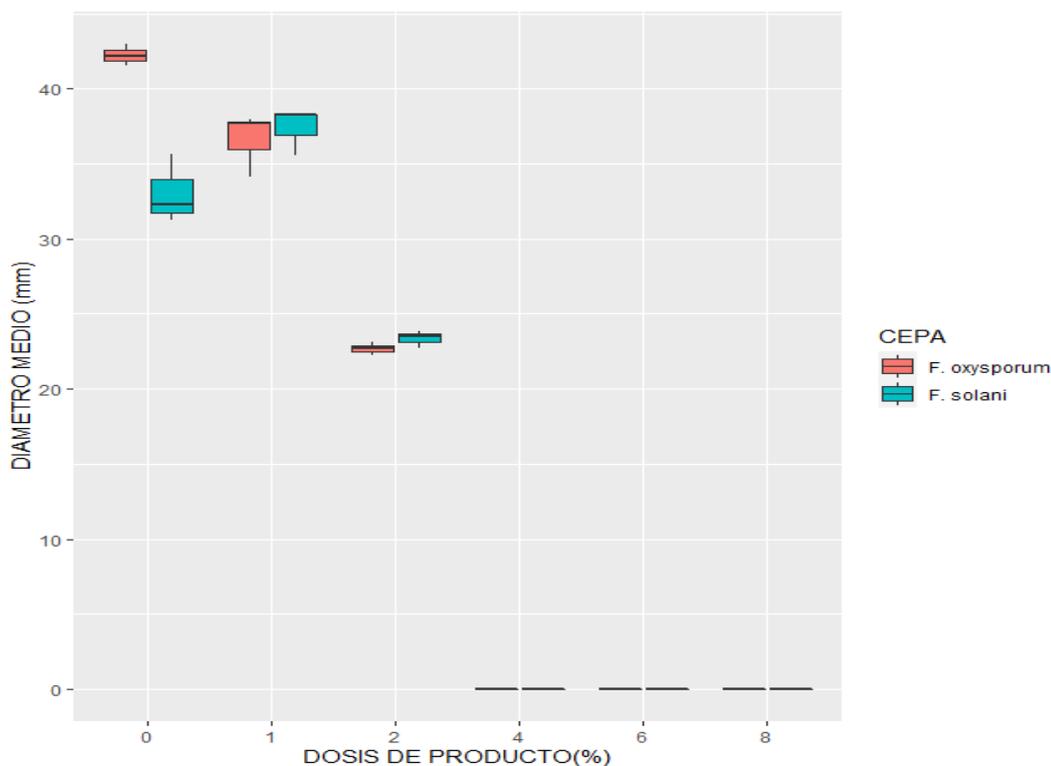
<b>Concentración</b>	<b>Diámetro total</b>	<b>Grupo</b>
0%	33,79	a
1%	18,58	b
2%	15,05	b
4%	3,13	c
6%	0,00	c
8%	0,00	c

Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

**Realizado por:** Peña Erika, 2023.

La prueba de Tukey al 5% para el extracto etanólico de aguacate en *Fusarium solani* se mostró tres grupos estadísticos; en el grupo “a” se encuentra la concentración 0%, en el grupo “b” se encuentran las concentraciones 1% y 2%, en el grupo “c” se encuentran las concentraciones 4%, 6% y 8%; en la concentración del 0% fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (33,79 mm) y en las concentraciones del 6% y 8% fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (0,00 mm). En *Fusarium oxysporum* se mostró tres grupos estadísticos; en el grupo “a” se encuentra la concentración 0%, en el grupo “b” se encuentran las concentraciones 1% y 2% y en el grupo “c” se encuentran las concentraciones 4%, 6% y 8%; en la concentración del 0% fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (33,79 mm) y en las concentraciones del 6% y 8% fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (0,00 mm).

**4.1.8 Crecimiento micelial de *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* en medio envenenado con extracto etanólico de nogal a distintas concentraciones**



**Ilustración 4-4:** Crecimiento micelial de *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* en medio enmendado de extracto etanólico de nogal a distintas dosis.

Realizado por: Peña Erika, 2023.

Se observa que el crecimiento micelial es parecido en las especies de *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*, la dosis en la que se presenta mayor crecimiento micelial en *Fusarium solani* es la dosis del 1% del extracto etanólico de nogal y en la sé que presenta menor crecimiento es en las dosis del 4%, 6% y 8% del extracto. En *Fusarium oxysporum* se puede visualizar que la dosis del 0% del extracto etanólico de nogal es en la que se presenta un mayor crecimiento micelial y las dosis del 4%, 6% y 8% del extracto es la que presenta menor crecimiento micelial.

**Tabla 17-4:** Análisis de varianza del crecimiento micelial de *Fusarium solani* en medio enmendado con distintas dosis del extracto etanólico de nogal.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	PR(>F)
Concentración	5	4707	941,5	713,4	2,073-14***
Error	12	16	1,3		

Códigos de significancias: 0 '\*\*\*\*' 0,001 '\*\*' 0,01 '\*' 0,05 '.' 0,1 ' ' 1

Realizado por: Peña Erika, 2023.

**Tabla 18-4:** Análisis de varianza del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto etanólico de nogal.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	PR(>F)
Concentración	5	5765	1152,9	1342	4,74e-16***
Error	12	10	0,9		

Códigos de significancias: 0 ‘\*\*\*’ 0,001 ‘\*\*’ 0,01 ‘\*’ 0,05 ‘.’ 0,1 ‘.’ 1

Realizado por: Peña Erika, 2023.

En el análisis de varianza (ANOVA) realizado a las concentraciones del extracto etanólico de nogal se puede visualizar que existe una diferencia significativa en las concentraciones que se usaron para controlar *Fusarium solani*, con un valor de 2,073-14 se demostró que las concentraciones que se emplearon contra dicha especie si varían en su crecimiento. En las concentraciones que se usó para controlar *Fusarium oxysporum* si se presenta diferencia significativa, con un valor de 4,74e-16 se demostró que las concentraciones empleadas contra dicha especie si varían en su crecimiento.

**Tabla 19-4:** Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de *Fusarium solani* en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto etanólico de nogal.

Concentración	Diámetro total	Grupo
1%	37,39	a
0%	33,04	b
2%	23,36	c
4%	0,00	d
6%	0,00	d
8%	0,00	d

Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

Realizado por: Peña Erika, 2023.

**Tabla 20-4:** Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* en medio enmendado con distintas concentraciones del extracto etanólico de nogal.

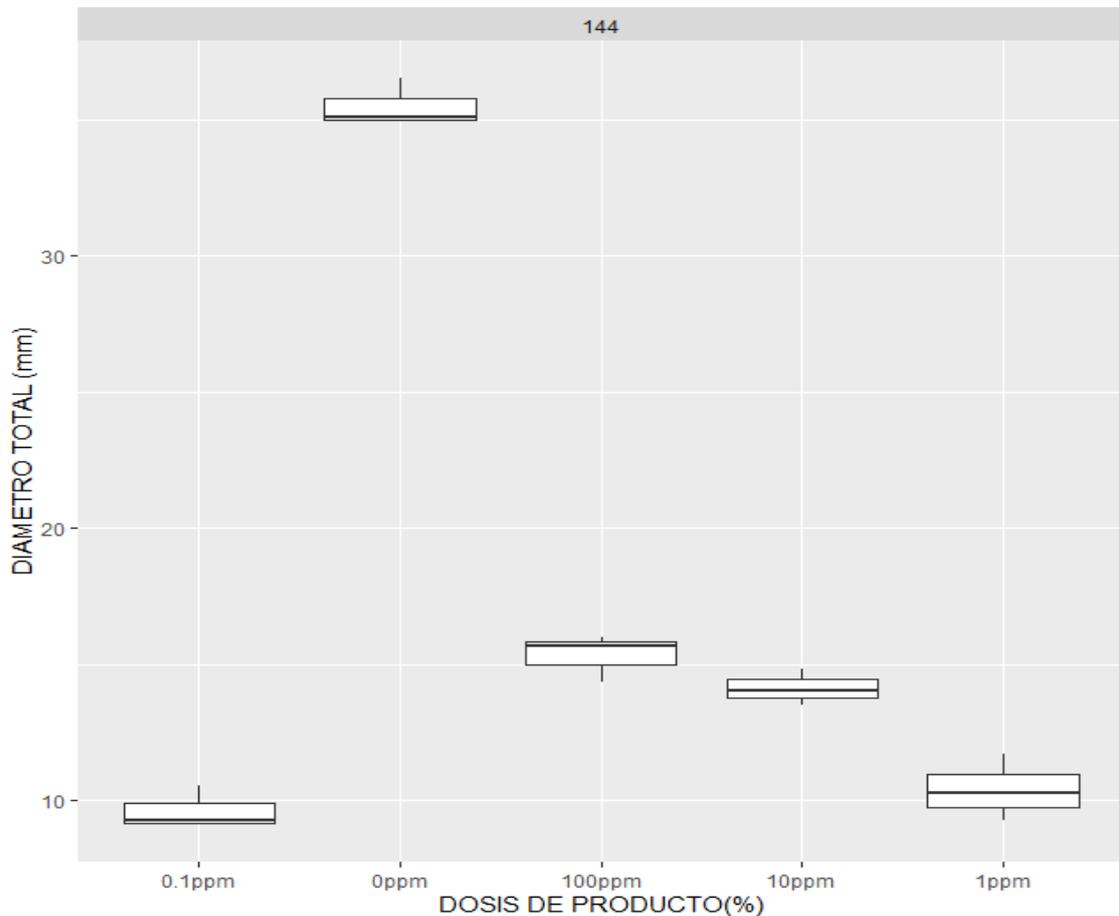
Concentración	Diámetro total	Grupo
0%	42,26	a
1%	36,60	b
2%	22,70	c
4%	0,00	d
6%	0,00	d
8%	0,00	d

Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

Realizado por: Peña Erika, 2023.

La prueba de Tukey al 5% para el extracto etanólico de nogal en *Fusarium solani* se mostró cuatro grupos estadísticos; en el grupo “a” se encuentra la concentración 1%, en el grupo “b” se encuentra la concentración 0%, en el grupo “c” se encuentra la concentración 2% y en el grupo “d” se encuentran las concentraciones 4%, 6% y 8%; en la concentración del 1% fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (37,39 mm) y en las concentraciones del 4%, 6% y 8% fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (0,00 mm). En *Fusarium oxysporum* se mostró cuatro grupos estadísticos; en el grupo “a” se encuentra la concentración 0%, en el grupo “b” se encuentra la concentración 1%, en el grupo “c” se encuentra la concentración 2% y en el grupo “d” se encuentran las concentraciones 4%, 6% y 8%; en la concentración del 1% fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (42,26 mm) y en las concentraciones del 4%, 6% y 8% fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (0,00 mm).

**4.1.9 Crecimiento micelial de *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* en medio enmendado con el fungicida fludioxonil a distintas concentraciones**



**Ilustración 5-4:** Crecimiento micelial de *Fusarium solani* en medio enmendado con el fungicida fludioxonil a distintas concentraciones.

Realizado por: Peña Erika, 2023.

Se observa que el crecimiento micelial de *Fusarium solani* en donde se presenta mayor crecimiento micelial es en la dosis de 0ppm del fungicida fludioxonil y en la sé que presenta menor crecimiento es en las dosis de 0,1ppm del fungicida.

**Tabla 21-4:** Análisis de varianza del crecimiento micelial de *Fusarium solani* en medio enmendado con distintas concentraciones del fungicida fludioxonil.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	PR(>F)
Concentración	4	1329,1	332,3	391,2	6,16e-11***
Error	10	8,5	0,8		

Códigos de significancias: 0 '\*\*\*\*' 0,001 '\*\*\*' 0,01 '\*\*' 0,05 '.' 0,1 '.' 1

Realizado por: Peña Erika, 2023.

**Tabla 22-4:** Análisis de varianza del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* en medio enmendado con distintas concentraciones del fungicida fludioxonil.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	PR(>F)
Concentración	4	573,2	143,29	70	2,84e-7***
Error	10	20,5	2,05		

Códigos de significancias: 0 \*\*\*\* 0,001 \*\*\* 0,01 \*\* 0,05 \* 0,1 . 1

Realizado por: Peña Erika, 2023.

En el análisis de varianza (ANOVA) realizado a las concentraciones del fungicida fludioxonil se puede visualizar que existe una diferencia significativa en las concentraciones que se usaron para controlar *Fusarium solani*, con un valor de 6,16e-11 se demostró que las concentraciones que se emplearon contra dicha especie si varían en su crecimiento. En las concentraciones que se usó para controlar *Fusarium oxysporum* si se presenta diferencia significativa, con un valor de 2,84e-7 se demostró que las concentraciones empleadas contra dicha especie si varían en su crecimiento.

**Tabla 23-4:** Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de *Fusarium solani* en medio enmendado con distintas concentraciones del fungicida fludioxonil.

Concentración	Diámetro total	Grupo
0ppm	35,24	a
100ppm	14,73	b
10ppm	14,15	b
1ppm	10,20	c
0.1ppm	9,86	c

Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

Realizado por: Peña Erika, 2023.

**Tabla 24-4:** Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de *Fusarium solani* en medio enmendado con distintas concentraciones del fungicida fludioxonil.

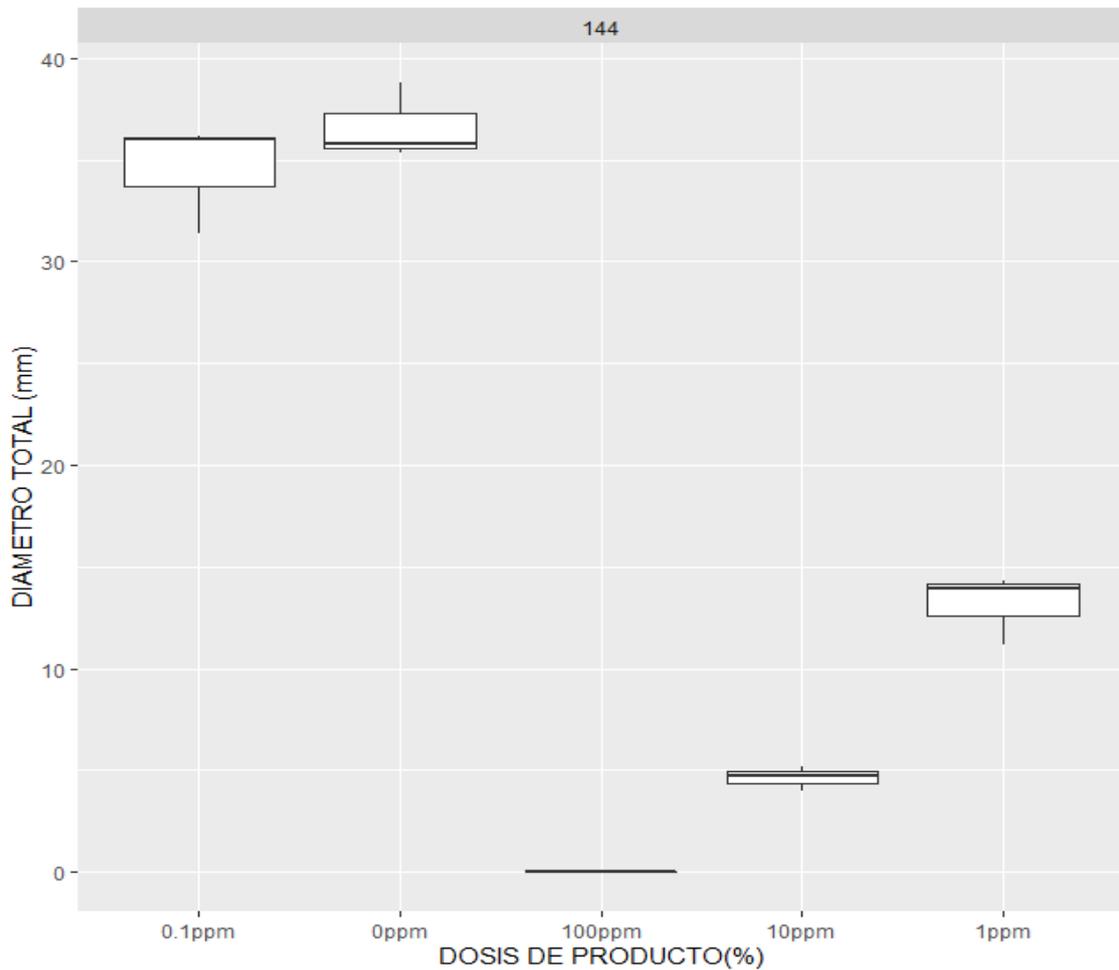
Concentración	Diámetro total	Grupo
0ppm	40,35	a
100ppm	31,80	b
0.1ppm	30,94	b
10ppm	26,00	c
1ppm	22,00	d

Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

Realizado por: Peña Erika, 2023.

La prueba de Tukey al 5% para el fungicida fludioxonil en *Fusarium solani* se mostró tres grupos estadísticos; en el grupo “a” se encuentra la concentración 0ppm, en el grupo “b” se encuentran las concentraciones 100ppm y 10ppm y en el grupo “c” se encuentran las concentraciones 1ppm y 0,1ppm; en la concentración de 0ppm fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (35,24 mm) y en la concentración de 0,1ppm fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (9,86 mm). En *Fusarium oxysporum* se mostró cuatro grupos estadísticos; en el grupo “a” se encuentra la concentración 0ppm, en el grupo “b” se encuentran las concentraciones 100ppm y 0.1ppm, en el grupo “c” se encuentra la concentración 10ppm y en el grupo “d” se encuentra la concentración 1ppm; en la concentración de 0ppm fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (40,35 mm) y en la concentración de 1ppm fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (22,00 mm).

4.1.10 *Crecimiento micelial de Fusarium solani y Fusarium oxysporum en medio enmendado con el fungicida tiabendazol a distintas concentraciones*



**Ilustración 6-4:** Crecimiento micelial de *Fusarium solani* en medio enmendado con el fungicida tiabendazol a distintas concentraciones.

**Realizado por:** Peña Erika, 2023.

Se visualiza que el crecimiento micelial de *Fusarium solani* en donde se presenta mayor crecimiento micelial es en la dosis de 0ppm del fungicida tiabendazol y en la sé que presenta menor crecimiento es en las dosis de 100ppm del fungicida.

**Tabla 25-4:** Análisis de varianza del crecimiento micelial de *Fusarium solani* en medio enmendado con distintas concentraciones del fungicida tiabendazol.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	PR(>F)
Concentración	4	3452	863	252,9	5,35e-10***
Error	10	34	3,4		

Códigos de significancias: 0 \*\*\*\* 0,001 \*\*\* 0,01 \*\* 0,05 \* 0,1 ' ' 1

Realizado por: Peña Erika, 2023.

**Tabla 26-4:** Análisis de varianza del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* en medio enmendado con distintas concentraciones del fungicida tiabendazol.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	PR(>F)
Concentración	4	3744	935,9	12439	2e-16***
Error	10	1	0,1		

Códigos de significancias: 0 \*\*\*\* 0,001 \*\*\* 0,01 \*\* 0,05 \* 0,1 ' ' 1

Realizado por: Peña Erika, 2023.

En el análisis de varianza (ANOVA) realizado a las concentraciones del fungicida tiabendazol se puede visualizar que existe una diferencia significativa en las concentraciones que se usaron para controlar *Fusarium solani*, con un valor de 5,35e-10 se demostró que las concentraciones que se emplearon contra dicha especie si varían en su crecimiento. En las concentraciones que se usó para controlar *Fusarium oxysporum* si se presenta diferencia significativa, con un valor de 2e-16 se demostró que las concentraciones empleadas contra dicha especie si varían en su crecimiento.

**Tabla 27-4:** Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de *Fusarium solani* en medio enmendado con distintas concentraciones del fungicida tiabendazol.

Concentración	Diámetro total	Grupo
0ppm	36,34	a
0.1ppm	34,22	a
1ppm	12,57	b
10ppm	3,87	c
100ppm	0,00	c

Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

Realizado por: Peña Erika, 2023.

**Tabla 28-4:** Test de Tukey al 5% del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* en medio enmendado con distintas concentraciones del fungicida tiabendazol.

Concentración	Diámetro total	Grupo
0ppm	41,60	a
0,1ppm	40,13	b
1ppm	38,89	c
10ppm	23,85	d
100ppm	0,00	e

Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

**Realizado por:** Peña Erika, 2023.

La prueba de Tukey al 5% para el fungicida tiabendazol en *Fusarium solani* se mostró tres grupos estadísticos; en el grupo “a” se encuentra las concentraciones 0ppm y 0,1ppm, en el grupo “b” se encuentra la concentración 1ppm y en el grupo “c” se encuentran las concentraciones 10ppm y 100ppm; en la concentración de 0ppm fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (36,34 mm) y en la concentración de 100ppm fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (0,00 mm). En *Fusarium oxysporum* se mostró cinco grupos estadísticos; en el grupo “a” se encuentra la concentración 0ppm, en el grupo “b” se encuentran la concentración 0,1ppm, en el grupo “c” se encuentra la concentración 1ppm, en el grupo “d” se encuentra la concentración 10ppm y en el grupo “e” se encuentra la concentración 100ppm; en la concentración de 0ppm fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (41,60 mm) y en la concentración de 100ppm fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (0,00 mm).

#### 4.1.11 Concentración letal 50 de los extractos y fungicidas

**Tabla 29-4:** Concentración letal 50 de los extractos etanólicos y fungicidas.

CEPA	Extracto o fungicida usado	CL <sub>50</sub> (mg/L)	Rango de sensibilidad
F. solani	Etanólico de aguacate	0,6026	Sensible
F. solani	Etanólico de nogal	1,2760	Levemente resistente
F. solani	Fungicida fludioxonil	0,1460	Sensible
F. solani	Fungicida tiabendazol	0,0136	Sensible
F. oxysporum	Etanólico de aguacate	0,1390	Sensible
F. oxysporum	Etanólico de nogal	0,8702	Sensible
F. oxysporum	Fungicida fludioxonil	0,4602	Sensible
F. oxysporum	Fungicida tiabendazol	72,35	Resistente

**Realizado por:** Peña Erika, 2023.

Se observó que la concentración letal 50 es distinta para cada especie de *Fusarium*, en *Fusarium solani* la CL<sub>50</sub> con el extracto etanólico de aguacate es de 0,6026 mg/L, con el extracto etanólico

de nogal es de 1,2760 mg/L, con el fungicida fludioxonil es de 0,1460 mg/L y con el fungicida tiabendazol es de 0,0136 mg/L. en *Fusarium oxysporum* la CL<sub>50</sub> con el extracto etanólico de aguacate es de 0,1390 mg/L, con el extracto etanólico de nogal es de 0,8702 mg/L, con el fungicida fludioxonil es de 0,4602 mg/L y con el fungicida tiabendazol es de 72,35 mg/L.

## 4.2 Discusión de resultados

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la actividad antifúngica in vitro del fungicida natural de los extractos etanólicos y acuosos de aguacate (*Persea americana*) y nogal (*Juglans neotropica*) a distintas concentraciones. Para ello se realizó un tamizaje fitoquímico de los extractos etanólicos y acuosos de aguacate y nogal.

Los metabolitos secundarios que se encontraron en el extracto etanólico de nogal (*Juglans neotropica*) mostrado en las (Tablas 1-4) fueron alcaloides, catequinas, azúcares reductores, saponinas, resinas, lactonas, fenoles, antocianidina, taninos y quinonas; en el extracto acuoso de nogal mostrado en la (Tabla 2-4) se observa la presencia de alcaloides, azúcares reductores, saponinas, flavonoides, fenoles y taninos. Moyón (2020, pp.32-34) dice que en los extractos etanólicos no se encuentra la presencia de quinonas ni lactonas lo que conlleva a pensar que esto puede estar relacionado con diversos factores como la época del año en que se tomaron las muestras, el secado y la variedad o genotipo; en cambio con los extractos acuosos se hicieron los mismos hallazgos de los metabolitos secundario.

Los metabolitos secundarios encontrados en el extracto etanolico de aguacate (*Persea americana*) mostrado en la (Tabla 3-4) fueron alcaloides, catequinas, azúcares reductores, resinas, lactonas, fenoles, antocianidina, taninos y quinonas; en la (Tabla 4-4) se puede observar que en el extracto acuoso se encontró alcaloides, azúcares reductores, flavonoides, fenoles y taninos. Los resultados hallados por Iglesias et al. (2021, p.60) fueron que el extracto etanólico no contiene saponinas ni resinas concordando que este extracto no posee saponinas pero si contiene resinas; en los extractos acuosos se obtuvieron los mismo resultados a excepción de las saponinas que dice que si existe la presencia de este metabolito lo que conlleva a pensar que estos estudios tal vez presentan estas diferencias por que se tomaron en distintas épocas las muestras, por el secado o por la variedad de la especie.

En la investigación realizada por Azuaje et al. (2017, p.202) dice que los principales metabolitos secundarios que controlan la actividad antifúngica son los alcaloides, saponinas, flavonoides, fenoles, entre otros. García et al. (2016, pp.119-120) menciona que los alcaloides poseen actividad antifúngica contra un amplio espectro de hongos patógenos, el mecanismo de acción de los

alcaloides parece basarse principalmente en la modificación (mutación) del ADN-ARN, así como la inhibición de la traducción de proteínas, también se dice que actúan sobre las membranas, afectan negativamente a los transportadores de iones y afectan la estabilidad de la membrana, e inhiben las enzimas hidrolasa y adenilato ciclasa. El mecanismo de acción de las saponinas es sobre la membrana afectando la integridad de las células fúngicas, estas se encuentran almacenadas en las células vegetales como precursores inactivos listos para ser transformados en antibióticos activos vía enzimática en respuesta a un patógeno (García et al., 2016; pp.120-121). Melgarejo y Abella (2011, pp.195-200) hablan de que existen cuatro mecanismos de acción en los cuales se agrupan los fungicidas estos son: inhibición del metabolismo energético, interferencia con la biosíntesis, interferencia con la estructura celular y actividad multisitio. Los fungicidas tiabendazol y fludioxonil se encuentran en el mecanismo de acción de interferencia con la estructura celular pero cada uno se encuentra en una subclase diferente. Tiabendazol se encuentra en la subclase interferencia con la división celular (mitosis) lo que quiere decir que posee un mayor efecto sobre el crecimiento de los tubos germinativos de las esporas e impide el desarrollo del micelio. Fludioxonil se encuentra en la subclase interferencia en transducción de señales lo que quiere decir que inhibe el crecimiento micelial del hongo. Se puede observar que los modos de acción de los extractos de nogal y aguacate afectan la estructura celular del hongo patógeno al igual que los fungicidas comerciales tiabendazol y fludioxonil.

Comparando los datos obtenidos en la prueba de Tukey al 5% con el extracto acuoso de aguacate, en *Fusarium oxysporum* se obtuvo que en la concentración del 0% fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (41,92 mm) y en la concentración del 30% fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (37,52 mm), en *Fusarium solani* en la concentración del 0% fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (32,95 mm) y en la concentración del 30% fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (28,82 mm), además, se evidencio que las concentraciones que se probaron para *Fusarium solani* estas no presentan significancia ya que su crecimiento micelial fue similar en todos. En el extracto etanólico de aguacate en *Fusarium solani* se mostró que en la concentración del 0% fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (33,79 mm) y en las concentraciones del 6% y 8% fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (0,00 mm). En *Fusarium oxysporum* en la concentración del 0% fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (33,79 mm) y en las concentraciones del 6% y 8% fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (0,00 mm). Con el fungicida fludioxonil en *Fusarium solani* en la concentración de 0ppm fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (35,24 mm) y en la concentración de 0,1ppm fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (9,86 mm), en *Fusarium oxysporum* en la concentración de 0ppm fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (40,35 mm) y en la concentración de 1ppm fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (22,00 mm). Con el fungicida tiabendazol se encontró que en *Fusarium*

*solani* en la concentración de 0ppm fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (36,34 mm) y en la concentración de 100ppm fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (0,00 mm), en *Fusarium oxysporum* en la concentración de 0ppm fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (41,60 mm) y en la concentración de 100ppm fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (0,00 mm). Comparando los resultados del extracto acuoso y etanólico de aguacate con los fungicidas fludioxonil y tiabendazol se puede evidenciar que el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* es mayor que *Fusarium solani*, además, aquí se determinó que el fungicida tiabendazol y el extracto etanólico son los que mejor controlan ya que se puede ver que inhibe el crecimiento completamente, a este le sigue el fungicida fludioxonil que inhibe el crecimiento de estos patógenos no lo hace por completo pero lo hace de mejor forma a diferencia del extracto acuoso de aguacate que necesita concentraciones altas para controlar en una pequeña cantidad el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani*. Con estos resultados se puede decir que el extracto acuoso de aguacate posee actividad antifúngica en una cantidad mínima lo que no lo hace un buen controlador para estos patógenos, a diferencia del extracto etanólico que se puede decir que posee un alto contenido de actividad antifúngica comprobando lo que dice Ariza y Sarmiento (2015, pp.68) que el extracto etanólico de aguacate presenta actividad antifúngica contra varios patógenos.

La prueba de Tukey al 5% para el extracto acuoso de nogal en *Fusarium solani* se mostró que en la concentración del 20% fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (35,57 mm) y en la concentración del 40% fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (22,71 mm), en *Fusarium oxysporum* se mostró que en la concentración del 0% fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (41,97 mm) y en la concentración del 50% fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (27,41 mm). En el extracto etanólico de nogal en *Fusarium solani* se mostró en la concentración del 1% fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (37,39 mm) y en las concentraciones del 4%, 6% y 8% fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (0,00 mm), en *Fusarium oxysporum* se mostró en la concentración del 1% fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (42,26 mm) y en las concentraciones del 4%, 6% y 8% fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (0,00 mm). Con el fungicida fludioxonil en *Fusarium solani* en la concentración de 0ppm fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (35,24 mm) y en la concentración de 0,1ppm fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (9,86 mm), en *Fusarium oxysporum* en la concentración de 0ppm fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (40,35 mm) y en la concentración de 1ppm fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (22,00 mm). Con el fungicida tiabendazol se encontró que en *Fusarium solani* en la concentración de 0ppm fue en donde se presentó mayor crecimiento micelial (36,34 mm) y en la concentración de 100ppm fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (0,00 mm), en *Fusarium oxysporum* en la concentración de 0ppm fue en

donde se presentó mayor crecimiento micelial (41,60 mm) y en la concentración de 100ppm fue donde se presentó un menor crecimiento micelial (0,00 mm). Se puede evidenciar que el extracto acuoso de nogal si controla el crecimiento micelial de los hongos fitopatógenos pero no lo hace de la misma forma que el extracto etanólico, el extracto acuoso necesita una dosis del 50% para poder controlar el crecimiento micelial a diferencia del extracto etanólico que con dosis del 4%, 6%, y 8% controlan al 100% el crecimiento micelial, comparando estos resultados con los fungicidas comerciales se observa que el fungicida tiabendazol controla al 100% el crecimiento micelial como lo hace el extracto etanólico de nogal, el fungicida fludioxonil si controla la mayor parte del crecimiento micelial pero no controla como lo hace el extracto etanólico y el fungicida tiabendazol. Comprobando que el extracto etanólico de nogal presenta mayor capacidad antifúngica contra *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani*, estos resultados concuerdan con los hallados por Huamaní y Ruíz (2005, p.58) ya que dice que el extracto etanólico de nogal presentan actividad antifúngica contra varios patógenos

La concentración letal 50 es distinta para cada especie de *Fusarium* ya que se ha visto que *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* reaccionan de una forma distinta tanto a los extractos como a los fungicidas. En *Fusarium solani* se determinó que la mejor  $CL_{50}$  es la del fungicida tiabendazol con un valor de 0,0136 mg/L dando como resultado que esta cepa es sensible ante este fungicida. en *Fusarium oxysporum* la  $CL_{50}$  con el extracto etanólico de aguacate es de 0,1390 mg/L determinando que esta cepa es más susceptible al extracto de aguacate, por otro lado, se puede observar esta cepa presenta resistencia al fungicida tiabendazol.

## CAPÍTULO V

### 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

En los extractos etanólicos de aguacate (*Persea americana*) y nogal (*Juglans neotropica*) se puede decir que entre varios metabolitos secundarios encontrados se puede mencionar los alcaloides y saponinas mismos que se encuentran en mayor cantidad, el modo de acción de los alcaloides es principalmente modificar el ADN-ARN lo que conlleva a producir mutaciones en los patógenos y las saponinas actúan en la membrana afectando la integridad de las células fúngicas.

Los extractos de etanólicos de aguacate y nogal controlan el crecimiento micelial contra *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* de mejor forma a diferencia de los extractos acuosos que inhiben el crecimiento, pero no lo hacen de una forma significativa, en el extracto acuoso de aguacate se comprobó que este no controla de una forma significativa las cepas de *Fusarium solani*, comprobando que los extractos etanólicos son más eficientes en el control de estos hongos.

Para el control de *Fusarium solani* se determinó que el extracto etanólico de aguacate necesitan una CL50 de 0,6026mg/L y nogal necesita una CL50 1,2760mg/L, comprobando que el extracto etanólico de aguacate es más eficiente que el extracto etanólico de nogal, al comparar el extracto etanólico de aguacate con el fungicida tiabendazol se observó que tiabendazol necesita una dosis menor que la de aguacate, también se pudo evidenciar que el extracto etanólico de nogal presentó una leve resistencia contra este hongo.

El extracto etanólico de aguacate es más efectivo controlando *Fusarium oxysporum* con una concentración letal 50 de 0,1390 mg/L a diferencia del extracto de nogal y los fungicidas que se necesita una concentración más alta, además, se pudo evidenciar que en el fungicida tiabendazol presentó resistencia ante esta cepa.

## 5.2 Recomendaciones

Realizar más estudios de actividad antifúngica contra *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* con extractos vegetales de otras especies forestales debido a que Ecuador es un país megadiverso y muy poco se estudia la parte química de las especies forestales.

Realizar un estudio cuantitativo de los metabolitos secundarios que se encontraron en los extractos vegetales para así saber las cantidades exactas de cada compuesto.

Utilizar *in vivo* las dosis que se obtuvieron en la concentración letal 50 para comprobar si son tan efectivas como en laboratorio.

Realizar un estudio de fitotoxicidad las especies frutales de aguacate (*Persea americana*) y nogal (*Juglans neotropica*) para determinar si estos presentan compuestos tóxicos y realizar un estudio de toxicidad de los extractos de aguacate y nogal para determinar si estos extractos son tóxicos pudiendo afectar al medio ambiente y al ser humano.

Realizar una combinación de los extractos de aguacate (*Persea americana*) y nogal (*Juglans neotropica*) con combinaciones del 50-50, 75-25 y 25-75 para comprobar si esta unión es más efectiva que los extractos por separado.

## GLOSARIO

**Actividad antifúngica:** es la que se presenta en cualquier sustancia, directa o indirectamente, causando cambios en la estructura de las células fúngicas que inhiben el crecimiento fúngico, alteran la viabilidad fúngica y mejoran las funciones de defensa del huésped (Gregori, 2005).

**Alcaloides:** Los alcaloides son compuestos heterocíclicos que contienen nitrógeno, principalmente derivados de aminoácidos, desempeñan un papel importante en el mimetismo hormonal de la célula, por lo que son sistemas vitales en la célula y necesarios para las plantas y el metabolismo (Escobar, 2014, p.11).

**Cepa:** son el material básico para el desarrollo de cualquier especie de hongo a nivel de laboratorio (Mata y Salmones, 2021: p.29).

**Concentración:** describe la cantidad de soluto presente en un volumen dado de solvente o solución, y esta relación se expresa en unidades de concentración, divididas en unidades físicas y químicas (Rodríguez, 2017, p.21).

**Concentración letal 50:** Es una medida de la eficacia de los xenobióticos para inhibir procesos biológica o bioquímicamente. Esta medida cuantitativa indica la cantidad de un compuesto o sustancia particular (inhibidor) necesaria para inhibir un proceso biológico (Roldán, 2016, p.11).

**Crecimiento micelial:** Depende en gran medida del medio de cultivo para proporcionar los nutrientes necesarios para que el micelio crezca en la forma y el tiempo requeridos (Buendía et al., 2020: p.34).

**Extracto vegetal:** Son preparados líquidos o en polvo obtenidos por extracción de los principios activos de las plantas obtenidos por distintos métodos (Jozivan et al., 2008: pp.01-05).

**Fenoles:** desempeñan muchas funciones metabólicas durante el crecimiento y la reproducción de las plantas, protegiendo contra patógenos y factores estresantes externos, como la luz ultravioleta y los depredadores (Peñarrieta et al., 2014: p.68).

**Fitopatología:** es la ciencia que estudia las enfermedades de las plantas e intenta mejorar las posibilidades de supervivencia de una planta frente a condiciones ambientales adversas y microorganismos patógenos (Diaz, 2020, p.1).

**Flavonoides:** Es un pigmento natural contenido en las plantas y protege al cuerpo del daño causado por oxidantes como los rayos ultravioletas, la contaminación ambiental (Martínez et al., 2022: p.271).

**Hongos fitopatógenos:** Los hongos fitopatógenos causan más del 70% de las enfermedades de las plantas, son organismos filogenéticamente diversos, sin embargo, se realizan estudios sobre estos porque afectan a los cultivos (Granados, 2018, p.3).

**Inhibición:** ayuda a distinguir entre organismos susceptibles y resistentes, establece correlación con los valores de crecimiento del micelio (Cercenado y Saavedra, 2009, pp.214-217).

**Metabolitos secundarios:** se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, tienen funciones ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros (Ávalos y Pérez, 2009: p.119).

**Modo de acción:** se refiere a los procesos celulares específicos que inhibe cada fungicida específico, cada modo de acción tiene un sitio específico donde atacan, los fungicidas se unen a enzimas específicas en los procesos celulares (FRAC, 2021, p.1).

**Patógeno:** son agentes infecciosos que pueden provocar enfermedades a su huésped entre ellos están los virus, hongos y bacterias (Stange, 2017).

**PDA:** El agar papa dextrosa (PDA) es un medio utilizado en micología, preparado a partir de papa, dextrosa y agar, el valor nutricional se compone de carbohidratos, proteínas, calorías y grasas (Enríquez, 2016, p.1).

**Saponinas:** son una clase de metabolitos secundarios que han sido ampliamente estudiados por sus propiedades biológicas reconocidas y actúan como barreras protectoras contra el ataque de patógenos y herbívoros (Ahumada et al., 2016: pp.438-440).

**Solución stock:** es una solución de mayor concentración, a partir de ella se puede hacer una dilución, la composición de la solución debe medirse por volumen y masa (Damián et al, 2013: p.49).

## BIBLIOGRAFÍA

**AMAGUAÑA ROJAS, Fernanda Jocelyn; & CHURUCHUMBI ROJAS, Erika Fernanda.** Estandarización fitoquímica del extracto de caléndula (*Calendula officinalis*) [En línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito, Carrera de Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales. Quito-Ecuador. 2018. [Consulta: 21 de mayo del 2021]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16149/1/UPS-QT13324.pdf>

**ÁNGEL GARCÍA, Carolina; ROBLEDO BURITICÁ, Jacobo; & CASTAÑO ZAPATA, Jairo.** “COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE INOCULACIÓN DE *Fusarium solani* f. sp. *passiflorae* EN PLÁNTULAS DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*)”. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* [en línea], 2018, (Colombia) 21 (1), pp. página 23-31. [Consulta: 20 de mayo del 2021]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v21n1/0123-4226-rudca-21-01-00023.pdf>

**ALBERCA JARAMILLO, Nathalia Verónica.** Análisis de la efectividad de cinco microsatélites para detectar la diversidad genética de *Juglans neotropica* (Trabajo de titulación) (Grado). [en línea] Universidad Técnica Particular de Loja, Facultad Área Biológica, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Loja-Ecuador. 2014. [Consulta: 1 de noviembre del 2021]. Disponible en: <https://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/9093/1/Alberca%20Jarramillo%20Nathalia%20Veronica.pdf>

**ÁLVAREZ FLORES, Jhonson Joel; VITE CEVALLOS, Harry; GARZÓN MONTEALEGRE, Víctor Javier; & CARVAJAL ROMERO; Héctor.** “Análisis de la producción de aguacate en el Ecuador y su exportación a mercados internacionales en el periodo 2008 al 2018”. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas* [en línea], 2021, (Ecuador) 4 (1), 164-172. [Consulta: 20 de noviembre del 2021]. ISSN: 2631-2662. Disponible en: [file:///C:/Users/erimi\\_000/Downloads/424-1538-1-PB.pdf](file:///C:/Users/erimi_000/Downloads/424-1538-1-PB.pdf)

**BARDALES CHUQUILIN, Anita Maria & URETA LUMBE, Yazmyn Mercedes.** ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA CON INFUSIÓN DE *Juglans neotropica* Diels (NOGAL) EN COLONIAS DE *Candida albicans* (ATCC 10231) (Trabajo de titulación) (Grado). [en línea] Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, Facultad de ciencias de la salud, Carrera profesional de estomatología. Cajamarca-Perú. 2017. [Consulta: 17 de noviembre del 2021]. Disponible en: <http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/207/Tesis->

Actividad antifúngica de extractos de plantas usadas en medicina popular en Argentina. *Revista Peruana de Biología* [en línea], 2007, (Perú) 14 (2). [Consulta: 15 de enero del 2022]. ISSN 1727-9933. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-99332007000300011#:~:text=La%20actividad%20antif%C3%BAngica%20de%20extractos,et%20al.%2C%202004](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332007000300011#:~:text=La%20actividad%20antif%C3%BAngica%20de%20extractos,et%20al.%2C%202004)

**CAMACHO LÓPEZ, María Dolores.** Identificación y variabilidad genética de cepas de *Fusarium spp.* aisladas de clavel (*Dianthus caryophyllus*) en Baja California, México (Trabajo de titulación) (Maestría). Centro de Investigación científica y de Educación Superior De Ensenada, Programa de Posgrado en Ciencias de la Vida. 2012. pp. 1-2. [Consulta: 2022-06-12]. Disponible en: <https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/2498/1/192101.pdf>

**CARRIÓN JARA, Ana Victoria; & GARCÍA GÓMEZ, Cándida Rafaela.** Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica [En línea] (Trabajo de titulación) (Grado) Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Cuenca, Ecuador. 2010. [Consulta: 21 de mayo del 2021]. Disponible en: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf>

**CRUZ VILLALTA, Corina Elizabeth; & FRANCO ROSALES, Sara Iveth.** PROPUESTA DE UN COLORANTE NATURAL A PARTIR DE LA SEMILLA DE Persea americana M (AGUACATE) (Trabajo de titulación) (Grado). [en línea] Universidad de el Salvador, Facultad de Química y Farmacia. (San Salvador - El Salvador). 2007. [Consulta: 10 de octubre del 2021]. Disponible en: <https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/4837/1/16100066.pdf>

**DAVICINO, Roberto; MATTAR, María; CASALI, Yolanda; CORREA, Silvia; PETTENATI, Elisa; & MICALIZZI, Blas.** “Actividad antifúngica de extractos de plantas usadas en medicina popular en Argentina”. *Revista Peruana de Biología* [en línea], 2007, (Perú) 14 (2). [Consulta: 15 de enero del 2022]. ISSN 1727-9933. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-99332007000300011#:~:text=La%20actividad%20antif%C3%BAngica%20de%20extractos,et%20al.%2C%202004](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332007000300011#:~:text=La%20actividad%20antif%C3%BAngica%20de%20extractos,et%20al.%2C%202004)

**EN BUENAS MANOS.** Fungicidas naturales [blog]. [Consulta: 20 de mayo del 2021]. Disponible en: <https://www.enbuenasmanos.com/ecologia-y-medio-ambiente/agricultura-ecologica/fungicidas-naturales/>

**FERTILAB.** Identificación y síntomas de *Fusarium Oxysporum* y *Fusarium Solani* [blog]. [Consulta: 20 de mayo del 2021]. Disponible en: <https://www.fertilab.com.mx/Sitio/notas/NTF-LF01-Identificacion-y-sintomas-de-Fusarium-Oxysporum-y-Fusarium-Solani.pdf>

**FLORES PUMA, Jenny Lucia.** Estudio fenológico de dos variedades de aguacate (*Persea americana* Mill.), en base a la determinación del tiempo de acumulación de unidades térmicas requeridas para completar los diferentes estados, en dos localidades de la Provincia de Pichincha. [En línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito, Carrera de Ingeniería Agronómica. Quito, Ecuador. 2013. [Consulta: 21 de septiembre del 2021]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5064/6/UPS-YT00161.pdf>

**GARCÍA HERNÁNDEZ, David; RIVAS MORALES, Catalina; & LEOS RIVAS, Catalina.** *Investigación en plantas de importancia médica* [pdf]. Nuevo León-México: OmniaScience, 2016. [Consulta: 12 de diciembre del 2022]. Disponible en: <https://www.omniascience.com/books/index.php/monographs/catalog/download/97/410/817-1?inline=1>

**GONZALES VILLA, Angela Andrea.** Obtención de aceites esenciales y extractos etanolicos de plantas del amazonas [En línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad Nacional de Colombia, Departamento de ingeniería Química. Colombia. 2004. [Consulta: 20 de mayo del 2021]. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/2800/angelaandreagonzalezvilla.2004.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

**GUERRA CORADO, Alvaro Enrique.** Obtención, caracterización y evaluación de las propiedades físico-químicas de los extractos fluidos, blandos y secos así como las tinturas del rizoma y de la fronda de calahuala (*Phlebodium pseudoaureum*) a nivel de laboratorio [En línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, Carrera de Ingeniería Química. Guatemala. 2005. [Consulta: 20 de mayo del 2021]. Disponible en: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08\\_0951\\_Q.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_0951_Q.pdf)

**HERNÁNDEZ LAUZARDO, Ana; BAUTISTA BAÑOS, Silvia; & VELÁZQUEZ DEL VALLE, Miguel.** “Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas” *Revista Fitotecnia Mexicana* [en línea], 2007, (México) 30 (2) pp. 119-123. [Consulta: 14 de junio del 2022] ISSN 0187-7380. Disponible en: <https://revistafitotecniamexicana.org/documentos/30-2/2a.pdf>

**HURTADO MANRIQUE, Paola; JURADO TEIXEIRA, Bertha; RAMOS LLICA, Eva: & CALIXTO COTOS, María.** “Evaluación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico estandarizado de hojas de *Juglans Neotropica Diels* (nogal peruano)”. *Revista de la Sociedad Química del Perú* [en línea], 2015, (Perú) 81 (3). [Consulta: 21 de abril del 2021].

ISSN 1810-634X. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1810-634X2015000300010](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2015000300010)

**IBARRA LÓPEZ, Alejandro.** Organogénesis de cuatro cultivares de aguacate *Persea americana* Mill [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía. Nuevo León, México. 2015. [Consulta: 22 de septiembre del 2021]. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/11012/1/1080212629.pdf>

**LLIVICURA ALVARADO, Mercy Alexandra.** Comparación in vitro de la actividad antifúngica de extractos etanólicos de romero (*Rosmarinus officinalis*) y cola de caballo (*Equisetum arvense*); frente al hongo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz [En línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca, Carrera de Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales. Cuenca, Ecuador. 2018. [Consulta: 21 de mayo del 2021]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16513/1/UPS-CT008003.pdf>

**MAE.** *Especies forestales leñosas arbóreas y arbustivas de los bosques montanos del Ecuador* [en línea]. Quito-Ecuador. 2015. [Consulta: 17 de noviembre del 2021]. Disponible en: <https://biblio.flacsoandes.edu.ec/libros/digital/55826.pdf>

**MARTÍNEZ BOLAÑOS, Ana María.** Evaluación y selección de cepas de *Trichoderma* sp. para control biológico de *Fusarium* sp. en maracuyá (*Passiflora edulis*, variedad. flavicarpa), en condiciones in vitro [en línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e ingeniería en Alimentos, Carrera de Ingeniería Bioquímica. Ambato, Ecuador. 2012. [Consulta: 21 de mayo del 2021]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3069/3/BQ.35.pdf>

**MINDA RUIZ, Astrid Carolina.** Diagnóstico micológico de agentes causales de la pudrición radicular del fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.), en cuatro parroquias del cantón Quito [en línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas, Escuela de Ingeniería Agronómica. Quito, Ecuador. 2019. [Consulta: 21 de mayo del 2021]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec:8080/bitstream/25000/20279/1/T-UCE-0004-CAG-187.pdf>

**NAVEDA GONZÁLES, Gabriela Fernanda.** Establecimiento de un proceso de obtención de extracto de ruda (*Ruta graveolens*), con alto contenido de polifenoles [en línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Escuela Politécnica Nacional, Facultad de ingeniería Química y

Agroindustria, Carrera de Ingeniería Agroindustrial. Quito, Ecuador. 2010. [Consulta: 20 de mayo del 2021]. Disponible en: <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/2295/1/CD-3036.pdf>

**OSPINA PENAGOS, Carlos Mario; HERNÁNDEZ RESTREPO, Raúl Jaime; ARISTIZABAL VALENCIA, Fabio Alonso; PATIÑO CASTAÑO, Jose Norbey; & SALAZAR CASTAÑO, Jorge Wilson.** *El cedro negro: una especie promisorio de la zona cafetera* [en línea]. Caldas-Colombia. 2003. [Consulta: 17 de noviembre del 2021]. Disponible en: <https://www.cenicafe.org/es/publications/bot025.pdf>

**PEÑA SÁNCHEZ, Rafael Ricardo; & PÁEZ MENDIETA, Jaime Eduardo.** ¿Qué es fitopatología? [blog]. Colombia: s.f. [Consulta: 15 de abril]. Disponible en: <https://virtual.uptc.edu.co/ova/fito/archivo/GENERALIDADES.pdf>

**PÉREZ ÁLVAREZ, Sandra; ÁVILA QUEZADA, Graciela; & COTO ARBELO, Orlando.** “Revisión bibliográfica EL AGUACATERO (*Persea americana Mill*)”. Cultivos tropicales [en línea], 2015, (Cuba) 36 (2), pp. 111-123. [Consulta: 21 de septiembre del 2021]. ISSN 0258-5936. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1932/193239249016.pdf>

**PÉREZ IBÁÑEZ, Nery Margarita.** *Control de calidad de drogas vegetales* [blog]. 2013. [Consulta: 21 de mayo del 2021]. Disponible en: <http://saber.ucv.ve/bitstream/123456789/7964/1/4.%20CONTROL%20DE%20CALIDAD%20DROGAS%20VEGETALES%202013-2014.pdf>

**RENTERÍA MARTÍNEZ, María Eugenia; GUERRA CAMACHO, Miguel Ángel; OCHOA MEZA, Andrés; MORENO SALAZAR, Sergio Francisco; MEZA MOLLER, Amparo del Carme; & GUZMÁN ORTÍZ, Juan Manuel.** “Descripción y comparación entre morfotipos de *Fusarium brachygibbosum*, *F. falciforme* y *F. oxysporum* patógenos en sandía cultivada en Sonora, México”. *Revista mexicana de fitopatología* [en línea], 2019, (México) 37 (1), pp. 16-34. [Consulta: 16 de abril del 2021]. ISSN 2007-8080. Disponible en <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1808-1>

**ROJAS RODRÍGUEZ, Freddy; & TORRES CÓRDOVA, Gustavo.** " Árboles del Valle Central de Costa Rica: reproducción". *Kurú; Revista Forestal*, 5, 13 (2008), (Costa Rica).

**RUMIÑAHUIMINGA, Segundo; JARAMILLO DIAZ, Nelson; & AGUIRRE MENDOZA, Zhofre.** “Productos forestales no maderables de origen vegetal de cinco comunidades del cantón Yacuambi, Zamora Chinchipe”. *Bosques Latitud Cero* [en línea], 2017, (Ecuador) 7 (1).

[Consulta: 01 de junio del 2022]. ISSN 2528-7828. Disponible en: <file:///C:/Users/Antho/Downloads/administrador,+Minga+et+al+2017+V5.pdf>

**SÁNCHEZ LEÓN, Gina; VARGAS RINCÓN, Andrea; & JIMÉNEZ, Pedro.** “Evaluación de la actividad antifúngica de extractos etanólicos de dos morfotipos de *Raphanus raphanistrum* L. sobre tres hongos fitopatógenos”. *Bioagro* [en línea], 2015, (Colombia) 27 (1). [Consulta: 15 de enero del 2022]. ISSN 1316-3361. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1316-33612015000100001](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612015000100001)

**SANTAMARÍA, Celia; MARTÍN, Ana; & ASTORGA, Federico.** *Extractos vegetales: aplicación para la reducción del estrés* [blog]. 2015. [Consulta: 16 de noviembre del 2021]. Disponible en: <https://nutricionanimal.info/download/0315-ena-WEB.pdf>

**SANTAMARÍA, Luisa; & URETA, José.** *¿Qué son los Fungicidas?* [blog]. 2014. [Consulta: 16 de noviembre del 2021]. Disponible en: [https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/23852/mod\\_resource/content/1/Que%20son%20los%20fungicidas.pdf](https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/23852/mod_resource/content/1/Que%20son%20los%20fungicidas.pdf)

**SCALVENZI, Laura; YAGUACHE, Bélgica; CABRERA, Paola; & GUERRINI, Alessandra.** “ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VITRO DE ACEITES ESENCIALES DE *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. Y *Piper aduncum* L.”. *Bioagro* [en línea], 2016, (Venezuela) 28 (1), pp. 39-46. [Consulta: 16 de abril del 2021]. ISSN 1316-3361. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/857/85744678005.pdf>

**TORO VANEGAS, Esaú; & ROLDÁN ROJAS, Isabel.** “Estado del arte, propagación y conservación de *Juglans neotropica* Diels., en zonas andinas”. *Madera y bosques* [en línea], 2018, (México) 24(1). [Consulta: 17 de noviembre del 2021]. ISSN 1405-0471. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-04712018000100401](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-04712018000100401)

**URQUIZO YUMISEBA, Luis Alfredo.** Influencia de los solventes y los métodos de extracción en la determinación de la actividad antioxidante de la especie “*Disterigma alaternoides* (kunth) nied.” planta nativa del Ecuador [en línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas, Carrera de Química Farmacéutica. Quito, Ecuador. 2016. [Consulta: 20 de mayo del 2021]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/15012/1/T-UCE-0008-QF047-2018.pdf>



## ANEXOS

### ANEXO A : RECOLECCIÓN DEL MATERIAL BOTÁNICO

REGISTRO FOTOGRÁFICO DE LA IDENTIFICACIÓN DE MUESTRAS BOTÁNICAS	
Recolección del material botánico 	Herborización del material vegetal 
Identificación de muestras. Muestra de <i>Juglans neotropica</i> del herbario (izquierdo) y muestra recolectada (derecha). 	
Identificación de muestras. Muestra de <i>Persea americana</i> del herbario (izquierdo) y muestra recolectada (derecha). 	

**ANEXO B: LIMPIEZA, DESINFECCIÓN, SELECCIÓN Y SECADO DEL MATERIAL VEGETAL DE *Juglans neotropica*.**

**REGISTRO FOTOGRÁFICO DE LA FASE DE LABORATORIO**

Limpieza y desinfección del material vegetativo de *Juglans neotropica*.



Pesado de hojas de *Juglans neotropica*.



Procedimiento de secado de muestras.



Muestras secas.



ANEXO C: LIMPIEZA, DESINFECCIÓN, SELECCIÓN Y SECADO DEL MATERIAL VEGETAL DE *Persea americana*.

REGISTRO FOTOGRÁFICO DE LA FASE DE LABORATORIO	
<p>Limpieza, desinfección y selección de muestras de <i>Persea americana</i>.</p> 	<p>Pesado de muestras.</p> 
<p>Muestras listas para secado.</p> 	<p>Procedimiento de secado de muestras.</p> 

**ANEXO D: PROCESO DE ELABORACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO.**

**REGISTRO FOTOGRÁFICO DE LA FASE DE LABORATORIO**

Limpieza del molino.



Desinfección del molino.



Proceso de elaboración del extracto etanólico de nogal.



Proceso de elaboración del extracto etanólico de aguacate.



**ANEXO E: PROCESO PARA SONICAR EL EXTRACTO.**

**REGISTRO FOTOGRÁFICO DE LA FASE DE LABORATORIO**

Proceso para sonicar el extracto



Preparación del extracto para maceración.



Maceración del extracto.



Filtración del extracto.



Concentración de los extractos en el rotavapor.



**ANEXO F: PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO.**

**REGISTRO FOTOGRÁFICO DE LA FASE DE LABORATORIO**



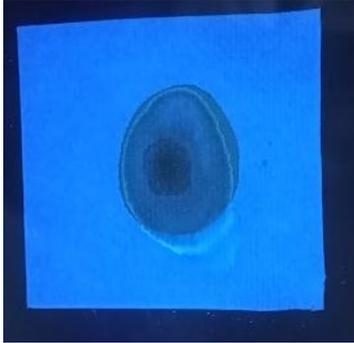
Proceso de maceración.



Proceso de filtración.



**ANEXO G: TAMIZAJE QUÍMICO EN EL EXTRACTO ETANÓLICO.**

<b>REGISTRO FOTOGRÁFICO DE LA FASE DE LABORATORIO</b>	
<p>Químicos utilizados por el tamizaje químico.</p> 	<p>Ensayo de catequina en el extracto etanólico de nogal.</p> 
<p>Ensayo de catequina en el extracto etanólico de aguacate.</p> 	<p>Ensayo de resina en el extracto etanólico de nogal.</p> 
<p>Ensayo de resina en el extracto etanólico de aguacate.</p> 	<p>Ensayo de fehling en el extracto etanólico de nogal.</p> 
<p>Ensayo de fehling en el extracto etanólico de aguacate.</p>	<p>Ensayo de baljet en el extracto etanólico de nogal.</p>



Ensayo de baljet en el extracto etanólico de aguacate.



Ensayo de lieberman-buchard en el extracto etanólico de aguacate.



Ensayo de espuma en el extracto etanólico de aguacate.



Ensayo de lieberman-buchard en el extracto etanólico de nogal.



Ensayo de espuma en el extracto etanólico de nogal.



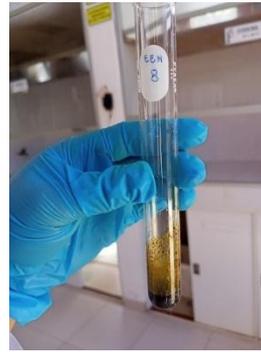
Ensayo de  $\text{Cl}_3\text{Fe}$  en extracto etanólico de nogal.



Ensayo de  $\text{Cl}_3\text{Fe}$  en extracto etanólico de aguacate.



Ensayo de Borntrager en extracto etanólico de nogal.



Ensayo de Borntrager en extracto etanólico de aguacate.



Ensayo de Shinoda en extracto etanólico de nogal.



Ensayo de Shinoda en extracto etanólico de aguacate.



Ensayo de Antocianidina del extracto etanólico de nogal.



Ensayo de Antocianidina del extracto etanólico de aguacate.

Ensayo de Dragendorff en el extracto etanólico de nogal.



Ensayo de Dragendorff en el extracto etanólico de aguacate.



Ensayo de Mayer en el extracto etanólico de nogal.



Ensayo de Mayer en el extracto etanólico de aguacate.



Ensayo de Wagner en el extracto etanólico de nogal.



Ensayo de Wagner en el extracto etanólico de aguacate.



**ANEXO H: TAMIZAJE QUÍMICO EN EL EXTRACTO ACUOSO.**

<b>REGISTRO FOTOGRÁFICO DE LA FASE DE LABORATORIO</b>	
Ensayo de Dragendorff en el extracto acuoso de aguacate. 	Ensayo de Dragendorff en el extracto acuoso de nogal. 
Ensayo de Mayer en el extracto acuoso de nogal. 	Ensayo de Mayer en el extracto acuoso de aguacate. 
Ensayo de Wagner en el extracto acuoso de nogal. 	Ensayo de Wagner en el extracto acuoso de aguacate. 
Ensayo de $\text{Cl}_3\text{Fe}$ en el extracto acuoso de nogal.	Ensayo de $\text{Cl}_3\text{Fe}$ en el extracto acuoso de aguacate.



Ensayo de Shinoda en los extractos acuosos de nogal.



Ensayo de Shinoda en los extractos acuosos de aguacate.



Ensayo de Fehling en el extracto acuoso de nogal.



Ensayo de Fehling en el extracto acuoso de aguacate.



Ensayo de Espuma en los extractos acuosos de aguacate y nogal.



**ANEXO I: PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO Y REACTIVACIÓN DE *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*.**

**REGISTRO FOTOGRÁFICO DE LA FASE DE LABORATORIO**

Conservado de *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*.



Pesado.



Preparación del medio de cultivo.



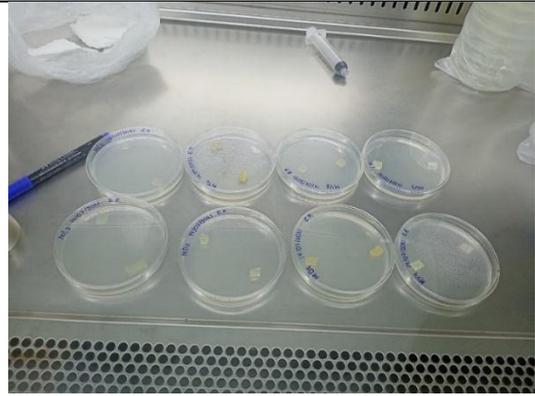
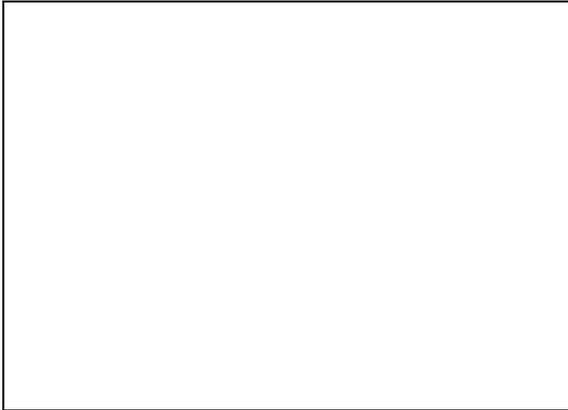
Ingreso del medio de cultivo al autoclave.



Cámara de flujo laminar y materiales que se usaron para dispensar el medio de cultivo.

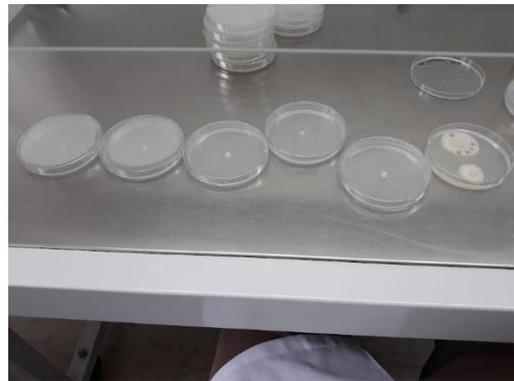
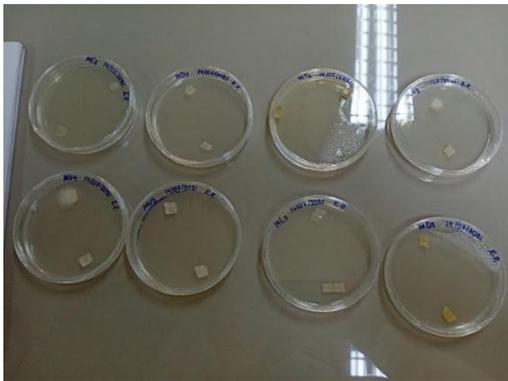


Cajas petri donde se usó la técnica dúplex para reactivar los hongos.



Cajas petri a los 5 días donde se puede apreciar el crecimiento micelial de los hongos.

Repique de los hongos de *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*.



**ANEXO J: CÁLCULOS PARA DETERMINAR LAS CONCENTRACIONES DEL FUNGICIDA TABENDAZOL.**

- Cálculos del fungicida Tiabendazol – ~~Mertect~~ 500

(Ingrediente activo) – (Nombre comercial)

$$1000 \text{ g/L} = 100\%$$

$$500 \text{ g/L} = 50\% \text{ (Concentración recomendada por el fabricante)}$$

**Concentración inicial en base a la concentración recomendada**

$$\begin{array}{l} 1\% \quad \swarrow \quad 500\text{mg/L} \\ 50\% \quad \searrow \quad C_i \end{array}$$

$$C_i = 250000 \text{ mg/L}$$

$C_i$  = Concentración inicial de la solución concentrada

$V_i$  = Volumen inicial de la solución concentrada

$C_f$  = Concentración final de la solución diluida

$V_f$  = Volumen final de la solución diluida

$V_o$  = Volumen de agua

$$C_i * V_i = C_f * V_f$$

$$V_i = \frac{C_f * V_f}{C_i}$$

$$V_i = \frac{5000 \frac{\text{mg}}{\text{L}} * 5 \text{ml}}{250000 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}$$

$$V_i = 0.1 \text{ ml de fungicida //}$$

$$V_o = V_f - V_i$$

$$V_o = 5 \text{ml} - 0.1 \text{ml}$$

$$V_o = 4.9 \text{ml de agua //}$$

**Dosis:**

$$500 \text{ ppm} = 0.1 \text{ml fungicida} + 4.9 \text{ml agua} \longrightarrow \text{Concentración stock}$$

$$100 \text{ ppm} = 4.5 \text{ ml de agua} + 0.5 \text{ ml de la concentración stock}$$

$$10 \text{ ppm} = 4.5 \text{ ml de agua} + 0.5 \text{ ml de la concentración anterior}$$

$$1 \text{ ppm} = 4.5 \text{ ml de agua} + 0.5 \text{ ml de la concentración anterior}$$

$$0.1 \text{ ppm} = 4.5 \text{ ml de agua} + 0.5 \text{ ml de la concentración anterior}$$

$$0 \text{ ppm} = 5 \text{ ml de agua}$$

**Cantidad que se debe tomar de cada solución**

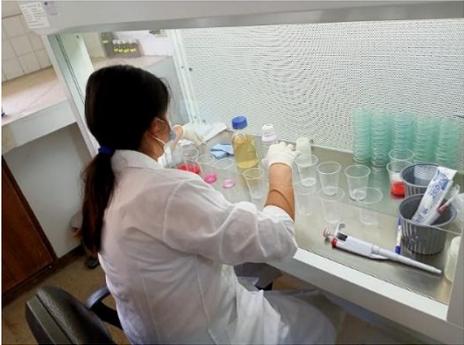
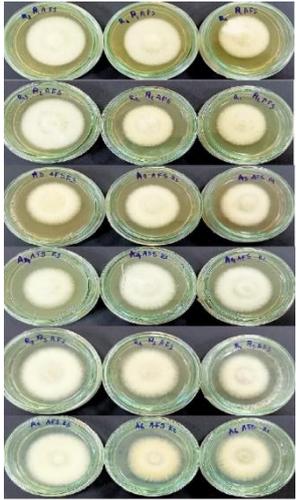
$$98 \text{ ml PDA} - 2 \text{ ml solución fungicida}$$

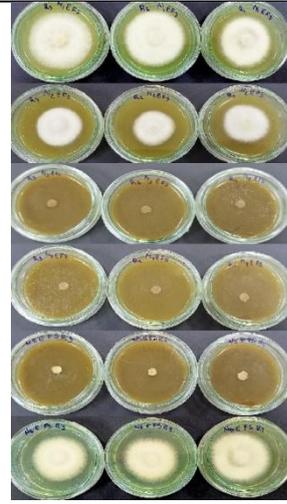
$$30 \text{ ml PDA} - x$$

$$X = 0.61 \text{ ml}$$



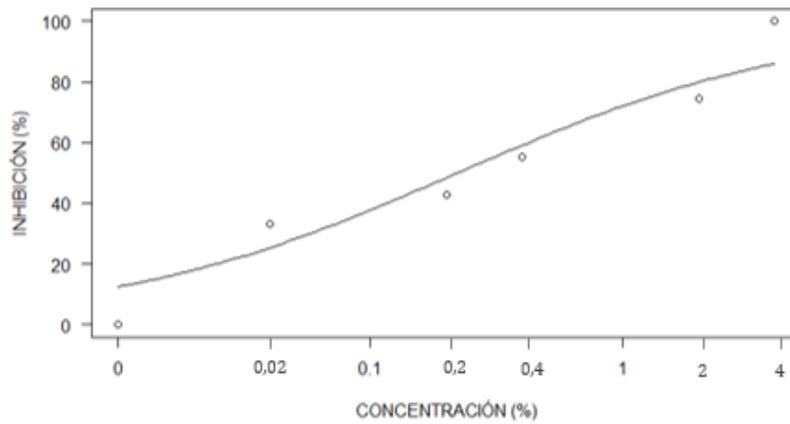
**ANEXO L: MONTAJE DEL ENSAYO DE CRECIMIENTO MICELIAL Y OBSERVACIÓN DE CRECIMIENTO MICELIAL EN EXTRACTO ACUOSO Y ETANÓLICO.**

<b>REGISTRO FOTOGRÁFICO DE LA FASE DE LABORATORIO</b>	
<p>Montaje del ensayo de crecimiento micelial en la cámara de flujo laminar.</p> 	<p>Crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> en el extracto acuoso de nogal en distintas concentraciones.</p> 
<p>Crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> en el extracto acuoso de nogal en distintas concentraciones.</p> 	<p>Crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> en el extracto acuoso de aguacate en distintas concentraciones.</p> 
<p>Crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> en el extracto acuoso de aguacate en distintas concentraciones.</p>	<p>Crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> en el extracto etanólico de nogal en distintas concentraciones.</p>



**ANEXO M: CL50 DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE AGUACATE EN DISTINTAS CONCENTRACIONES PARA CONTROLAR *Fusarium oxysporum*.**

**CL50 DEL EXTRACTO ETANOLICO DE AGUACATE PARA *Fusarium oxysporum***



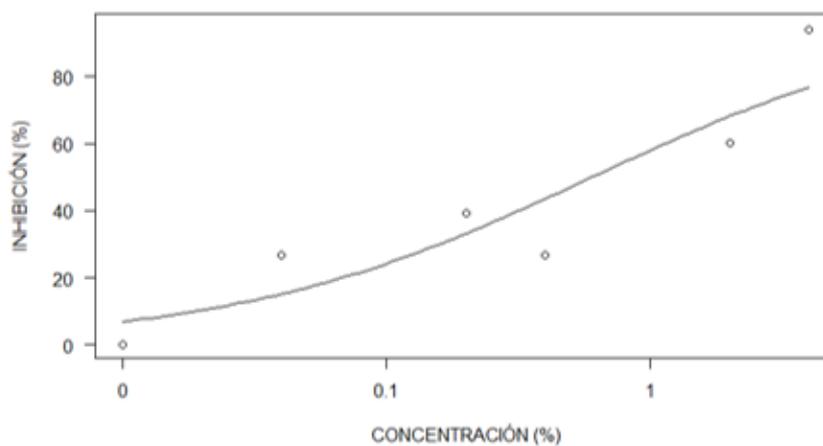
**Tabla:** Estimación de la pendiente y de la concentración letal 50 con sus límites de confianza.

	Estimación	Error estándar	Valor t	Valor p	2.5 %	97.5 %
Pendiente	-0,6282	0,0749	-8,3826	3,009e-7 ***	-0,7870	-0,4693
CL50	0,2219	0,0391	5,6764	3,438e-5 ***	0,1390	0,3047

Codigos de significancias: 0 \*\*\*\* 0,001 \*\*\* 0,01 \*\* 0,05 \* 0,1 \* 1

**ANEXO N: CL50 DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE AGUACATE EN DISTINTAS CONCENTRACIONES PARA CONTROLAR *Fusarium solani*.**

**CL50 DEL EXTRACTO ETANOLICO DE AGUACATE PARA *Fusarium solani***



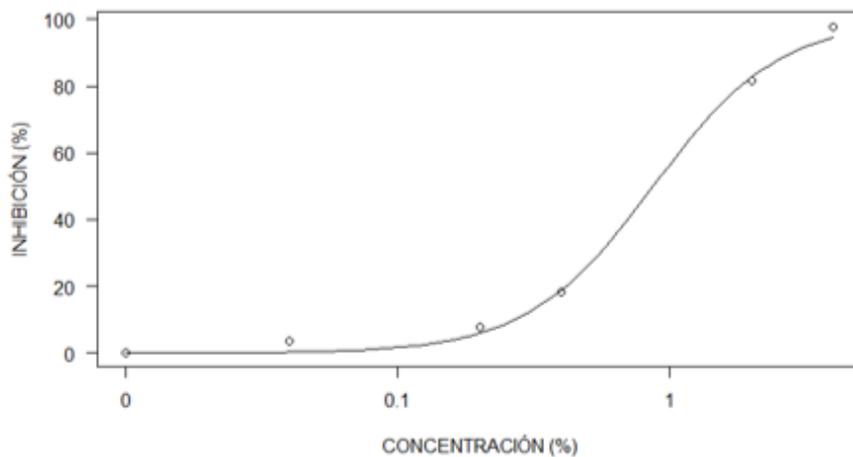
**Tabla:** Estimación de la pendiente y de la concentración letal 50 con sus límites de confianza.

	Estimación	Error estándar	Valor t	Valor p	2.5 %	97.5 %
Pendiente	-0,6332	0,1404	-4,5100	0,0003561 ***	-0,9308	-0,3355
CL50	0,6026	0,1726	3,4905	0,0030236 **	0,2366	0,9685

Codigos de significancias: 0 \*\*\*\* 0,001 \*\*\* 0,01 \*\* 0,05 \* 0,1 \* 1

**ANEXO Ñ: CL 50 DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE NOGAL EN DISTINTAS CONCENTRACIONES PARA CONTROLAR *Fusarium oxysporum*.**

**CL50 DEL EXTRACTO ETANOLICO DE NOGAL PARA *Fusarium oxysporum***



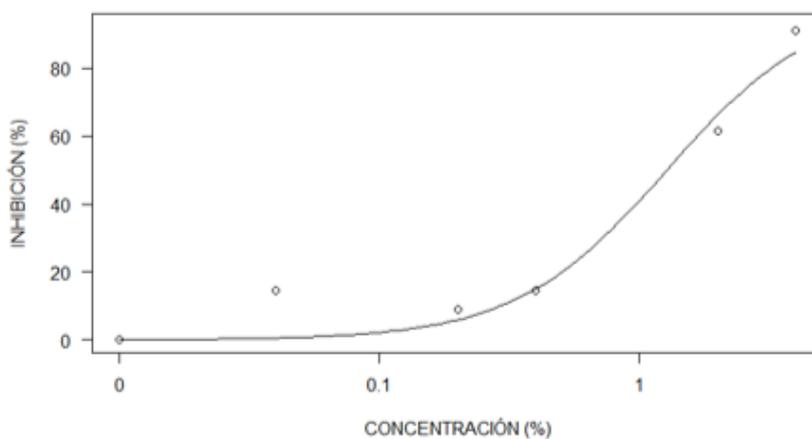
**Tabla:** Estimación de la pendiente y de la concentración letal 50 con sus límites de confianza.

	Estimación	Error estándar	Valor t	Valor p	2.5 %	97.5 %
Pendiente	-1,8720	0,1187	-15,7650	3,614e-11 ***	-2,1237	-1,6203
CL50	0,8702	0,0503	17,2980	8,857e-12 ***	0,7635	0,9767

Códigos de significancias: 0 \*\*\*\* 0,001 \*\*\* 0,01 \*\* 0,05 \* 0,1 . 1

**ANEXO O: CONCENTRACIÓN LETAL 50 DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE NOGAL EN DISTINTAS CONCENTRACIONES PARA CONTROLAR *Fusarium solani*.**

**CL50 DEL EXTRACTO ETANOLICO DE NOGAL PARA *Fusarium solani***

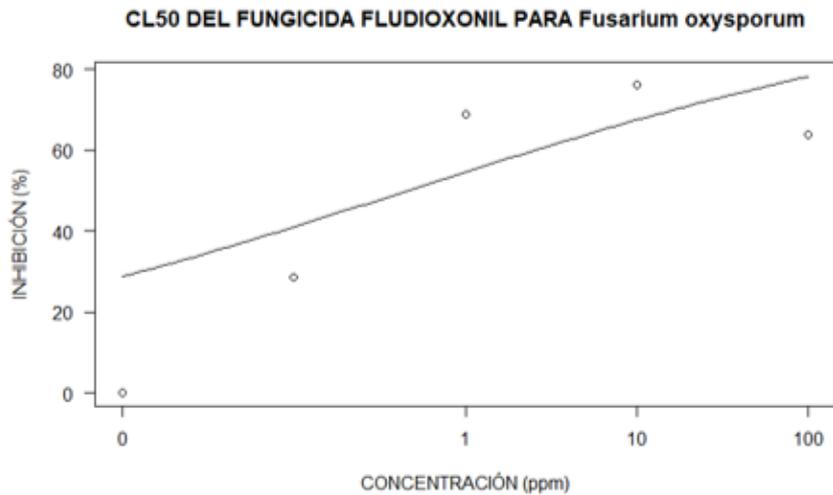


**Tabla:** Estimación de la pendiente y de la concentración letal 50 con sus límites de confianza.

	Estimación	Error estándar	Valor t	Valor p	2.5 %	97.5 %
Pendiente	-1,4929	0,1977	-7,5499	1,166e-06 ***	-1,9120	-1,0737
CL50	1,2760	0,1382	9,2302	8,273e-08 ***	0,9829	1,5690

Códigos de significancias: 0 \*\*\*\* 0,001 \*\*\* 0,01 \*\* 0,05 \* 0,1 . 1

**ANEXO P: CONCENTRACIÓN LETAL 50 DEL FUNGICIDA FLUDIOXONIL EN DISTINTAS CONCENTRACIONES PARA CONTROLAR *Fusarium oxysporum*.**

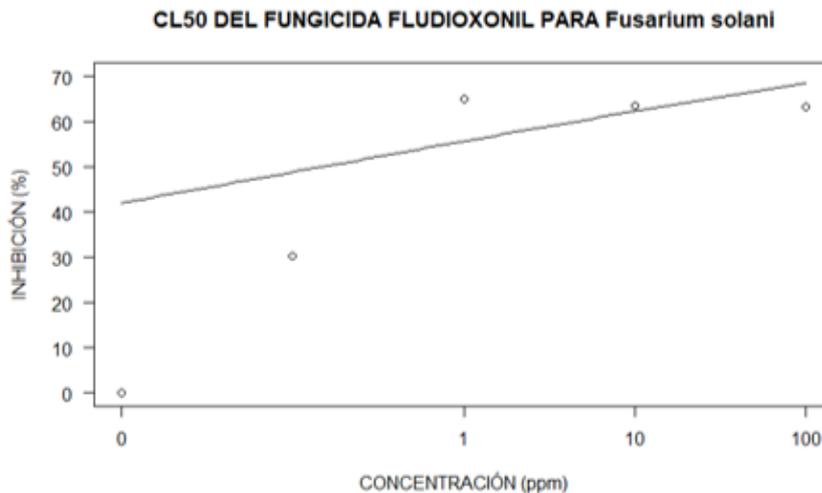


**Tabla:** Estimación de la pendiente y de la concentración letal 50 con sus límites de confianza.

	Estimación	Error estándar	Valor t	Valor p	2.5 %	97.5 %
Pendiente	-0,2367	0,0753	-3,1445	0,007753 **	-0,3993	-0,0740
CL50	0,4602	0,3518	1,3082	0,213455	-0,2997	1,2201

Códigos de significancias: 0 \*\*\*\* 0,001 \*\*\* 0,01 \*\* 0,05 \* 0,1 . 1

**ANEXO Q: CONCENTRACIÓN LETAL 50 DEL FUNGICIDA FLUDIOXONIL EN DISTINTAS CONCENTRACIONES PARA CONTROLAR *Fusarium solani*.**

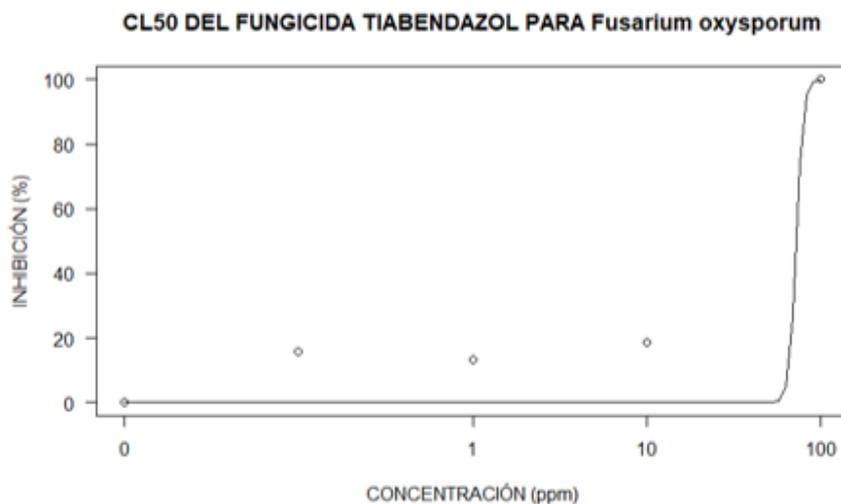


**Tabla:** Estimación de la pendiente y de la concentración letal 50 con sus límites de confianza.

	Estimación	Error estándar	Valor t	Valor p	2.5 %	97.5 %
Pendiente	-0,1189	0,0513	-2,3187	0,03734 *	-0,2297	-0,0081
CL50	0,1460	0,1571	0,9295	0,3696	-0,1933	0,4853

Códigos de significancias: 0 \*\*\*\* 0,001 \*\*\* 0,01 \*\* 0,05 \* 0,1 . 1

**ANEXO R:** ONCENTRACIÓN LETAL 50 DEL FUNGICIDA TIABENDAZOL EN DISTINTAS CONCENTRACIONES PARA CONTROLAR *Fusarium oxysporum*.

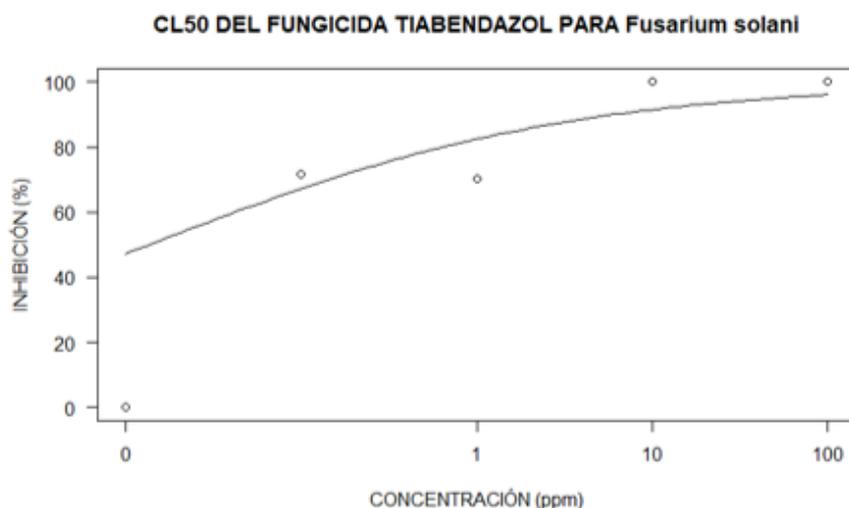


**Tabla:** Estimación de la pendiente y de la concentración letal 50 con sus límites de confianza.

	Estimación	Error estándar	Valor t	Valor p	2.5 %	97.5 %
Pendiente	-21,8990	650,0680	-0,0337	0,9736	-1426,285	1382,487
CL50	72,3500	707,5680	0,1019	0,9204	-1456,472	1600,742

Códigos de significancias: 0 \*\*\*\* 0,001 \*\*\* 0,01 \*\* 0,05 \* 0,1 . 1

**ANEXO S:** CONCENTRACIÓN LETAL 50 DEL FUNGICIDA TIABENDAZOL EN DISTINTAS CONCENTRACIONES PARA CONTROLAR *Fusarium solani*.



**Tabla:** Estimación de la pendiente y de la concentración letal 50 con sus límites de confianza.

	Estimación	Error estándar	Valor t	Valor p	2.5 %	97.5 %
Pendiente	-0,3598	0,0899	-4,0016	0,001508 **	-0,5540	-0,1655
CL50	0,0136	0,0129	1,0509	0,3124	-0,0143	0,0414

Códigos de significancias: 0 \*\*\*\* 0,001 \*\*\* 0,01 \*\* 0,05 \* 0,1 . 1

## ANEXO T: CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES.



**Ofc.No.004.CHEP.2023**

17 de febrero del 2023

A QUIEN CORRESPONDA:

Reciba un atento y cordial saludo, por medio de la presente certifico que la señorita Peña Quiroz Erika Michelle con CI: 1804884003, tesista de la carrera Ing. Forestal, identificó: *Junglans neotropica* Diels (Juglandaceae; Persea americana Mill. (Lauraceae)..Según autorización de recolección de especímenes de la diversidad Biológica NO. 1477 (MAAE-ARSFC-2021-1477). Estas especies son nativas - cultivadas, esta información se revizo en el herbario y registros, se archivará en el lapso de un año para los fines pertinentes. Es todo cuanto puedo decir en honor a la verdad y la interesada puedo usar el presente certificado como crea conveniente

Atte.

JORGE  
MARCELO  
CARANQUI  
ALDAZ

Firmado  
digitalmente por  
JORGE MARCELO  
CARANQUI ALDAZ  
Fecha: 2023.02.17  
07:55:24 -05'00'

Ing. Jorge Caranqui Msc.  
BOTANICO  
HERBARIO ESPOCH

HERBARIO  
FACULTAD DE  
RECURSOS  
NATURALES



esPOCH

Dirección de Bibliotecas y  
Recursos del Aprendizaje

UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y  
DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 08 / 03 / 2023

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
Nombres – Apellidos: ERIKA MICHELLE PEÑA QUIROZ
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
Facultad: RECURSOS NATURALES
Carrera: INGENIERÍA FORESTAL
Título a optar: INGENIERA FORESTAL
f. responsable: Ing. Cristhian Fernando Castillo Ruiz

  
Ing. Cristhian Fernando Castillo



0448-DBRA-UTP-2023