

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**



**CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

**Evaluación de dos extractos como inhibidores en el  
desarrollo de *Fusarium oxysporum in vitro***

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**AUTOR**

JOSÉ ENRIQUE MANOBANDA GALLO

**TUTOR:**

Ing. Mg. SEGUNDO EUCLIDES CURAY QUISPE

**CEVALLOS – ECUADOR**

**2020**

## APROBACIÓN

“Evaluación de dos extractos como inhibidores del desarrollo de *Fusarium oxysporum* in vitro”

**REVISADO POR:**



Firmado electrónicamente por:  
**SEGUNDO  
EUCLIDES CURAY  
QUISPE**

.....  
Ing. Mg. SEGUNDO EUCLIDES CURAY QUISPE  
TUTOR

## APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN



Firmado electrónicamente por:  
**MARCO OSWALDO  
PEREZ SALINAS**

.....  
Ing. Mg. Marco Pérez, PhD  
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

FECHA

26/03/2021



Firmado electrónicamente por:  
**LUIS ALFREDO  
VILLACIS  
ALDAZ**

.....  
Ing. Mg. Luis Villacis  
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

FECHA

24/03/2021



Firmado electrónicamente por:  
**RITA CUMANDA  
SANTANA MAYORGA**

.....  
Ing. Mg. Rita Santana  
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

FECHA

25/03/2021

## **DERECHO DE AUTOR**

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “Evaluación de dos extractos como inhibidores el desarrollo de *Fusarium oxysporum* in vitro” como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Ingeniera Agrónoma en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o de parte de él.

**JOSÉ ENRIQUE MANOBANDA GALLO**

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar agradezco a Dios por darme la vida y la sabiduría para llegar a un objetivo que parecía un sueño imposible de alcanzar cuando comencé los estudios.

También agradezco al Ing. Segundo Curay por impartir sus vastos conocimientos, apoyarme con sus consejos y tiempo. Para poder empezar un paso de la vida de la vida profesional. Y a todos los ingenieros que brindaron sus conocimientos ya sea en las aulas de clases o fuera de ellas compartiendo sus experiencias ya vividas.

Y un agradecimiento muy sincero a mis amigos, compañeros de trabajo y sin equivocarme podría decirse mi segunda familia Victoria, Cintia, Mishell y Alexander quienes me han apoyado desde el momento en que comenzó este sueño hasta el día que se termina de cumplir. Con sus consejos, palabras de aliento.

Gracias a todos los compañeros con quienes tuvimos la oportunidad de compartir el aula.

## **DEDICATORIA**

Dedicado a mis padres José Manobanda y Narciza Gallo por darme la vida, por confiar y guiarme por el camino adecuado para completar este paso más en la vida, además a mi hermana María J. Manobanda que cuando llego a mi vida me puso una obligación más de crecer para que tenga un ejemplo a seguir y que vea que los sueños si se cumplen con esfuerzo y dedicación.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>APROBACIÓN</b>	1
<b>DERECHO DE AUTOR</b>	I
<b>AGRADECIMIENTO</b>	II
<b>ÍNDICE DE CONTENIDO</b>	IV
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	VI
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	VII
<b>ÍNDICE DE ANEXOS</b>	VII
<b>RESUMEN</b>	VIII
<b>SUMMARY</b>	IX
<b>CAPITULO I</b>	1
<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>MARCO TEÓRICO</b>	2
1.2. Antecedentes investigativos	2
<b>1.3. CATEGORÍAS FUNDAMENTALES</b>	6
1.3.1. Extractos vegetales	6
1.3.2.1. Clasificación taxonómica.	6
1.3.2.2. Descripción botánica	7
1.3.2.3. Farmacología experimental	7
1.3.2.4.. Química	7
1.3.3. Mostaza caliente ( <i>Synapsis alba.</i> )	9
1.3.3.1. Clasificación taxonómica.	9
1.3.3.2. Origen	9
1.3.3.3. Descripción botánica de la planta	11
1.3.3.4. Cultivo	11
1.3.4. <i>Fusarium oxysporum</i>	12
1.3.4.1. Las características microscópicas que ayudan a la identificación son:	13
1.3.4.2. Epidemiología	16
1.3.4.3. Medidas protectoras ante la enfermedad.	17
<b>1.4. HIPÓTESIS</b>	18
<b>1.5. OBJETIVOS</b>	18
	IV

1.5.1. Objetivo general	18
1.5.2. Objetivos específicos	18
<b>CAPÍTULO II</b>	19
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	19
<b>2.1. Ubicación del experimento (ensayo)</b>	19
<b>2.2. Características del lugar</b>	19
<b>2.3. Equipos y materiales</b>	19
2.3.1. Equipos	19
2.3.2. Materiales	20
2.3.3. Reactivos	20
2.4. Factores de estudio	20
2.4.1. Extractos vegetales	20
2.4.2. Dosis de aplicación	21
<b>2.5. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN</b>	21
2.5.1. Tratamientos	21
<b>2.6. Diseño experimental</b>	21
2.6.1. Características del ensayo	22
<b>2.7. MANEJO DEL EXPERIMENTO</b>	22
2.7.1. Recolección de especies vegetales	22
2.7.2. Recolección de agente causal ( <i>Fusarium oxysporum</i> )	22
2.7.3. Aislamiento del agente causal	22
2.7.4. Obtención de extractos vegetales	23
2.7.4.1. Obtención por maceración	23
2.7.5. Aplicación y siembra en los extractos.	23
2.8. VARIABLES RESPUESTAS	24
2.8.1. Determinación de curva de crecimiento micelial	24
2.8.2. Porcentaje de Inhibición Micelial (% IM)	24
<b>2.9. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN</b>	24
<b>CAPITULO III</b>	26
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	26
<b>3.1. Análisis de resultados</b>	26
<b>3.1.1. Curva de crecimiento de los diferentes tratamientos</b>	26

3.2.1. Evaluación del porcentaje de inhibición en el desarrollo del micelio	27
3.2.1.1. Porcentaje de inhibición en el extracto de mostaza caliente	27
3.2.1.2. Porcentaje de inhibición en el extracto de cola de caballo	28
<b>CAPITULO IV</b>	31
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	31
<b>4.1. CONCLUSIONES</b>	31
<b>4.2. RECOMENDACIONES</b>	31
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	33
<b>6.1. ANEXOS</b>	40

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1 . Estructura general de los glucosinolatos.....	12
<i>Figura N° 2. Ciclo de Fusarium oxysporum</i> (Arafat s/f) .....	16
Figura N° 3. Curva de crecimiento de los diferentes tratamientos .....	26
Figura N° 4. Porcentaje de inhibición en el extracto de mostaza .....	27
Figura N° 5. Porcentaje de inhibición en el extracto de cola de caballo .....	29



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación taxonómica de Cola de caballo ( <i>Equisetum arvense</i> L.).....	6
Tabla 2. Composición química del <i>Equisetum</i> sp. ....	8
Tabla 3. Taxonomía de Mostaza caliente ( <i>Synapsis alba</i> .) .....	9
Tabla 4. Características microscópicas para la identificación de <i>Fusarium oxysporum</i> .....	13
Tabla 5. Tipos de conidios de <i>Fusarium oxysporum</i> .....	14
Tabla 6. Tratamientos.....	21

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO ADEVA .....	40
ANEXO 2 FOTOGRAFIAS DEL ENSAYO .....	41
ANEXO 3 TABLA DE DATOS .....	40

## RESUMEN

La presente investigación tuvo por objetivo evaluar la actividad antifúngica in vitro de cola de caballo (*Equisetum sp*) y mostaza caliente (*Synapsis alba*) contra el hongo *Fusarium oxysporum*. El ensayo se lo realizó en la Facultad de Ciencias Agropecuarias en el Laboratorio de Sanidad Vegetal perteneciente a la Universidad Técnica de Ambato. En el experimento para la preparación de los extractos se utilizó el método de extracción por maceración. Para el aislamiento y la purificación del material fúngico tuvo varias fases de las cuales mencionaremos a continuación; fue extraído de plantas enfermas, se realizó una cámara húmeda, siembra en Agar-Papa-Dextrosa (PDA) e incubado a  $25\pm 2$  °C y 70% de humedad. Se realizó un arreglo factorial ( $3 \times 2 + 2$ ) dispuesto en un Diseño Completamente al Azar (DBCA) con tres repeticiones y con 5 cajas como factor en estudio donde se registraron las variables respuestas como son el porcentaje de inhibición micelial y crecimiento micelial,

Los mejores resultados se obtuvieron en el tratamiento E2D3 y E1D3 (extracto de mostaza caliente y cola de caballo al 10%) donde se alcanzó una inhibición del 62,4% y un 67,0% respectivamente. En comparación con el testigo de comercial (Tebuconazole +Trifloxystrobin) que obtuvo un 100% de inhibición a las 144 horas de haber tomado la información. Por otro lado, el crecimiento de *Fusarium oxysporum* mostró mayor desarrollo cuando las concentraciones de los extractos de cola de caballo y mostaza caliente disminuyeron al 5%, obteniendo una media de crecimiento de 6,12 mm y 5,88 mm respectivamente.

De este modo se concluyó que los extractos tienen propiedades antifúngicas gracias a la presencia de glucosilatonatos en la mostaza y la presencia del ácido silícico en la cola de caballo mismos que actúan en contra de *Fusarium oxysporum*, considerándose alternativa de control ecológico amigable con el medio ambiente evitando el uso indiscriminado de los fungicidas químicos quienes generan daños a la salud del ser humano.

**Palabras clave:** Extractos, *Inhibición*, *Fusarium oxysporum*, *control*.

## SUMMARY

The present research aimed to evaluate the antifungal activity in vitro horsetail (*Equisetum* sp) and hot mustard (*Synapsis alba*) against the fungus *Fusarium oxysporum*. The test was carried out at the Faculty of Agricultural Sciences in the Plant Health Laboratory belonging to the Technical University of Ambato. In the experiment for the preparation of the extracts, the extraction method by maceration was used. For the isolation and purification of the fungal material, it had several phases of which we will mention below; It was extracted from diseased plants, a humid chamber was carried out, sowing in Potato-Dextrose Agar (PDA) and incubated at  $25 \pm 2$  °C and 70% humidity. A factorial arrangement ( $3 \times 2 + 2$ ) arranged in a Completely Random Design (DBCA) was made with three repetitions and with 5 boxes as a factor under study where the response variables were recorded, such as the percentage of mycelial inhibition and mycelial growth,

The best results were obtained in the E2D3 and E1D3 treatments (hot mustard extract and 10% horsetail) where inhibition of 62.4% and 67.0% respectively was achieved. Compared with the commercial control (Tebuconazole + Trifloxystrobin) that obtained 100% inhibition 144 hours after taking the information. On the other hand, the growth of *Fusarium oxysporum* showed greater development when the concentrations of horsetail and hot mustard extracts decreased to 5%, obtaining an average growth of 6.12 mm and 5.88 mm respectively.

In this way, it was concluded that the extracts have antifungal properties thanks to the presence of glucosilicates in mustard and the presence of silicic acid in horsetail, which act against *Fusarium oxysporum*, being considered an environmentally friendly alternative of ecological control. avoiding the indiscriminate use of chemical fungicides that cause damage to human health.

Keywords: Extracts, Inhibition, *Fusarium oxysporum*, control.

## CAPITULO I

### INTRODUCCIÓN

En el Ecuador, el control de patógenos virulentos es muy importante pues estos generan grandes pérdidas económicas en diferentes ámbitos del sector agropecuario. Las diferentes plagas y enfermedades han desarrollado resistencia a los diversos plaguicidas químicos, generando mayores aplicaciones en el proceso de producción, perjudicando así a corto y mediano plazo la salud de las personas **(Llivicura 2018)**.

El uso inadecuado de los plaguicidas en los cultivos agrícolas y en otros sectores del agro han generado inseguridad en la salud de los campesinos, así también en la población que consume los alimentos que son producidos por el sector primario, debido a que estos productos de primera necesidad tienen un alto contenido de sustancias dañinas para la salud **(García y Rodríguez 2012)**.

Uno de los hongos más problemáticos en el sector agrícola es *Fusarium oxysporum* que causan severo daño a las plantas, provocando pérdidas entre 21 y 47% en los cultivos a campo abierto **(Seminis 2017)**. Especialmente en tomate de riñón donde genera un 60% de pérdida en la producción y la calidad del fruto **(Gonzalez,et. al 2012)**. La tendencia actual es el desarrollo de bio-fungicidas provenientes de los componentes activos de plantas, obteniendo productos seguros para la salud de las personas y amigables con el medio ambiente **(Tayupanta 2012)**.

La mostaza caliente y la cola de caballo son una de las alternativas ecológicas para la desinfección del suelo. Estas plantas disminuyen el desarrollo de enfermedades que causan serios problemas en el sistema radicular y foliar de los diversos cultivos. Las plantas poseen compuestos anti fúngicos, en el caso de la cola de caballo gracias a sus compuestos químicos otorgaría resistencia pues en su composición se encuentra el silicio en dos formas además de tener saponinas, taninos y alcaloides que cumplen acciones antifúngicas **(Cáceres 2018)**.

La mostaza caliente al formar parte de las brassicáceas tiene en su composición un grupo glucosinolato que hidrolizado puede derivarse en un isotiocianato efectivo al momento de contrarrestar el desarrollo micelial de varios hongos perjudiciales para los cultivos (**Perinola et al.2016**).

Una metodología para el control de hongos a partir de cola de caballo y mostaza caliente es la aplicación de extractos. Estos extractos pueden ser hidro-alcohólicos o alcohólicos mismos que aplicados a los cultivos reducirían el empleo de fungicidas sintéticos que generalmente se utilizan para el control de *Fusarium oxysporium*, ayudando así a disminuir los efectos de la enfermedad ocasionada por este hongo respondiendo así a una problemática de interés nacional (**Chango 2015**).

## MARCO TEÓRICO

### 1.2. Antecedentes investigativos

Los extractos evaluados de cola de caballo y mostaza caliente tienen bases científicas basados en experiencias de otros investigadores. En estudios realizados por **Cáceres (2018)** sobre la especie *Equisetum sp.* nos muestra que poseen alcaloides que tienen efectos inhibitorios en el crecimiento de microorganismos patógenos, los mismos que actúan al intercalarse con la cadena de ADN, además de interrumpir la síntesis de proteínas e inhabilitar las enzimas del metabolismo de carbohidratos. También se describen taninos que actúan en contra de la proliferación de hongos y bacterias gracias a ciertas sustancias presentes en los extractos vegetales capaces de mezclarse con las proteínas evitando así su putrefacción.

**Pacheco et al., (2018)** en su trabajo de investigación demostró en resultados pre-liminares que los extractos de florete y tallo de brócoli poseen un efecto inhibitorio contra cepas patógenas Gram positivas y Gram negativas, de interés en alimentos y salud pública como (*Bacillus cereus 186, Escherichia coli Enterococcus faecalis , Streptococcus pyogenes, Salmonella spp., Shigella flexneri, Proteus vulgaris, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus y Staphylococcus*

*xylosum*). Además, se detectó actividad anti-fúngica contra *Aspergillus niger*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Candida albicans*

**Perinola et. al (2016)** menciona que las Brassicaceas son utilizadas para la bio-fumigación, por la presencia de compuestos químicos como son los glucosinolatos presentes en diferentes partes de la planta que al hidrolizarse pueden transformarse en diferentes tipos de los nitrilos, los isotiocianatos, tiocianatos y oxazolidinonas, con diferente toxicidad frente a diversos organismos. Son una herramienta muy importante para la agricultura ecológica pues brindan una nueva forma de controlar las diferentes enfermedades del suelo y a nivel de la parte foliar también.

**Reyes (2013)** en su investigación menciona que los extractos de *Ricinus communis* L., *Momordica charantia* L., *Moringa oleifera* Lam., *Morinda citrifolia* L. y *Piper auritum* Kunth poseen una acción antifúngica, sobre los hongos (*Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. et Maubl., *Fusarium* spp. y *Curvularia* spp.). Todos los extractos indujeron el 100% de inhibición del desarrollo del micelio a los 7 y 10 días. Con respecto a la combinación extracto-concentración, el mejor tratamiento fue el de Noni (*Morinda citrifolia* L.) al 75% en el control de *L. theobromae* y *Fusarium* spp.

**Chávez y Aquino (2012)** en sus investigaciones con el uso de extractos de *Cyperus* spp., *Eryngium elegans*, *Allium sativum*, y *Urtica dioica*, para el control de varios hongos como son *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp. y *Sclerotium* sp. se demostró que el extracto de *Urtica dioica* al 20 % inhibió el crecimiento de micelio de los tres hongos; así como también la esporulación de *Fusarium* sp. y en la generación de esclerocios de *Sclerotium* sp.

**Hernández et. al (2011)** en su investigación menciona la inhibición del micelio generada por los extractos vegetales, es gracias a la presencia de algunos metabolitos secundarios como: flavonoides, quinonas, alcaloides, taninos y lactonas. Que son un grupo de compuestos de amplio rango de actividad biológica, que incluye la actividad antiviral, repelente, antimicrobiana, y antioxidante.

En la investigación de **Iriarte et al. (2011)** al estudiar el efecto de la incorporación de *Brassica oleracea var. capitata*, sobre *Fusarium oxysporum*. Con dosis de 0, 3 y 5 kg m<sup>-2</sup> y con diferentes concentraciones del hongo fitopatógeno (3,3 x 10<sup>2</sup>, 6,6x10<sup>3</sup> y 6,6x10<sup>4</sup> conidios g<sup>-1</sup> de suelo) a diversas fechas de bio-fumigación (abril/07, agosto/07 y diciembre/07). Se obtuvo que la aplicación de repollo picado al suelo como bio-fumigante, permite disminuir *Fusarium oxysporum* cuando la concentración no es superior a 3,3x10<sup>2</sup> conidios g<sup>-1</sup> de suelo.

**Rodríguez, T et. al (2011)** mencionan que las plantas generan compuestos con propiedades anti-microbianas que son utilizadas en el control de diferentes enfermedades que afectan a cultivos de interés comercial. Los extractos vegetales ayudan al control diferentes hongos gracias a la presencia de metabolitos secundarios. En el ensayo se utilizó dos extractos de la especie vegetal *Acacia farnesiana*: uno hidroalcohólico y otro acuoso. Donde luego de las 72 horas de inoculación el extracto genero más del 90% inhibición.

**Ortega. et al. (2010)** en su trabajo de investigación menciona que los principales isotiocianatos de la familia brassiceae se los obtuvo a partir de extractos alcohólicos, estos fueron el fenilo, bencilo, 2-feniletilo, alilo y propilo. En el ensayo utilizó tres concentraciones al 0.1 ,0.2, 0.5 % generando resultados que las plantas tratadas con los extractos a la concentración de 0.1 %, tuvieron un porcentaje de infección menor que las tratadas con las concentraciones al 0.2 y 0.5 %. Bajo invernadero, los isotiocianatos de fenilo y bencilo realizaron un buen control del hongo *Fusarium.spp*. Además, no genero fito-toxicidad en las plantas, se aplicó los extractos e isotiocianatos en escenarios de invernadero y en campo.

**Lizcano, (2007)** en su investigación sobre la inhibición de *Fusarium*, utilizó extractos vegetales encaminando a ser amigables con el ambiente. Donde el extracto *Thymus vulgaris*, a varias concentraciones: 150, 200, 500 g/L con dos tiempos de tratamiento térmico 15 y 30 minutos. Demostró que el tratamiento de 500 g/L y con un tiempo de 30 minutos el mejor para la inhibición de esta enfermedad.

**López et al. (2005)** evaluó el efecto inhibitorio de los extractos acuosos de *Allium sativum*, *Larrea tridentata*, *Syzygium aromaticum* y *Cinnamomum zeylanicum* sobre el desarrollo micelial de *Verticillium dahliae*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*. Donde utilizó un fungicida Tiabendazol a una concentración de 600 ppm, el mismo que inhibió por completo el crecimiento de *Fusarium oxysporum* y *R. solani*; en *V. dahliae*. La inhibición de los extractos varió de 80.7% a 90% con 144 y 72 h de incubación, respectivamente, este fue superado por los extractos de *Syzygium aromaticum* y *Allium sativum* en sus dos concentraciones (5 y 10%). El extracto de *Syzygium aromaticum* a dos concentraciones inhibió el 100% del desarrollo de los hongos después de 72 h de incubación. Los extractos con el mayor efecto inhibitorio sobre las tres especies de hongos fueron los de *Syzygium aromaticum*, *Allium sativum* y *Larrea tridentata*

**Rodríguez et al. (2002)** en sus investigaciones evaluaron el efecto del extracto de semilla de *Citrus paradisi* sobre la marchitez ocasionada por *Fusarium oxysporum*. in vitro. Fueron evaluadas a diferentes concentraciones: 0,10,25,50,75,100 y 1000 mg/L i.a. de *Citrus paradisi* para determinar la dosis media efectiva (DE-50). Donde se demostró que la inmersión de raíces en la solución de Citrex, más la dosificación semanal al suelo logró reducir la marchitez en un 85%, seguido por el tratamiento que consiste en la aplicación combinada al suelo y al follaje con un 64% de disminución de esta enfermedad. Mientras que el tratamiento que consta de la aplicación de Citrex al follaje o al suelo generó una disminución del 42%.



## 1.3. CATEGORÍAS FUNDAMENTALES

### 1.3.1. Extractos vegetales

Villa *et al*, (2014) menciona que son compuestos con propiedad anti-fúngica encontrados en las plantas, estos compuestos pueden afectar a diferentes patógenos, ya sea de manera individual o por mezclas en determinadas concentraciones y dosificaciones. Así también, existen diversas metodologías y técnicas de extracción, mismas que son estudiados para proteger los metabolitos secundarios.

Las plantas nos permiten obtener determinadas sustancias útiles: para la nutrición, control de plagas y control de hongos fito-patógenos, estos extractos pueden elaborarse a partir de una o varias plantas y de diferentes partes de una misma. La extracción se lo puede realizar por medios físicos y químicos como son: la maceración, infusión, fermentación y la decocción (Cano 2016).

### 1.3.2. Cola de caballo (*Equisetum spp.* )

#### 1.3.2.1. Clasificación taxonómica.

**Tabla 1** Clasificación taxonómica de Cola de caballo (*Equisetum arvense L.*)

Reino	Plantae
Sub-reino	Tracheophyta
Súper- división	Pteridophyta
División	Equisetophyla
Clase	Sphenopsida
Sub-clase	Equisetidae
Orden	Equisetales
Familia	Equisetaceae

---

Género	Equisetum L.	
Especie	<i>E. arvense</i> L.	Fuente tomada de Sandhu et al, (2010)

---

### 1.3.2.2. Descripción botánica

Es una planta robusta, que tiene un tallo erguido de 1m hasta 3 m de altura, de coloración verdosa, hueco excepto en los nudos. Las hojas son escamiformes, parcialmente soldadas entre sí formando alrededor del nudo una vaina. Los esporangios son las reproductoras las cuales se colocan al final de los tallos, agrupadas en espigas en forma de estróbilos elipsoidales en. La planta carece de olor y su sabor es ligeramente amargo o salino (**Tayupanta 2012**).

Algunas de las especies son nativas de Europa, Asia y América, aunque se han convertido en universales, otras son nativas de América desde México hasta Argentina, crecen en lugares húmedos, arenosos y pantanosos hasta 2000 msnm (**Llivicura 2018**).

### 1.3.2.3. Farmacología experimental

*Equisetum arvense* ha demostrado que el polvo de las partes aéreas de tiene actividad insecticida contra *Aedes aegypti* ( mosquito de la fiebre amarilla). Mientras tanto el extracto acuoso de toda la planta inhibió los cultivos de *Staphylococcus aureus*. Además, el extracto acuoso tiene actividad antiviral, además de poseer unas características fúngicas (**Gründemann et al, 2014**).

### 1.3.2.4.. Química

Las especies de *Equisetum* spp. son tóxicas debido a que contienen tiaminasa la cual rompe la proteína tiamina (**Gallardo. et al 2006**). En un análisis químico realizado se detalló la presencia de ácido silícico, azúcares, esteroides, compuestos fenólicos, alcaloides, flavonoides, taninos, glicósidos, saponinas y ácido aconítico (**Tejeda 2003**).

Composición química:

La estructura química del *Equisetum arvense* L. es considerada como inusual pudiendo encontrar ácidos, glucósidos saponínicos, flavonoides, entre otros, como se desglosa a continuación.

**Tabla 2.** Composición química del *Equisetum sp.*

Familia	Compuesto químico
Ácidos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Silícico</li> <li>• Oxálico</li> <li>• Málico</li> <li>• Equisético</li> <li>• Gálico</li> </ul>
Glucósido saponínico	Equisetonósido
Alcaloides	Nicotina
Óxido	Sílice
Ácidos fenólicos	Apigenina 5-O-glucósido Ácido meso tartárico monocafeoil Ácido meso tartárico dicafeoil
Flavonoides	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Quercetina</li> <li>• Isoquercetina</li> <li>• Quercetina 3-O-glucósido</li> <li>• Quercetina 3-O- (6"-O-malonilglucósido)</li> <li>• Kaempferol 3-O-glucosido</li> </ul>

---

Terpenos

- 1,8 Cineol
- Linalool
- Timol
- Alcanfor

Fuente tomada de **García *et al*, 2012.**

---

### 1.3.3. Mostaza caliente (*Synapsis alba*.)

#### 1.3.3.1. Clasificación taxonómica.

**Tabla 3.** Taxonomía de Mostaza caliente (*Synapsis alba*.)

---

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Capparales
Familia:	Brassicaceae
Tribu:	Brassiceae
Género:	<i>Sinapis</i>
Especie:	<i>Sinapis alba</i> L.

---

#### 1.3.3.2. Origen

Tienen su origen en Asia y Europa, este es un cultivo anual, perteneciente a la familia brassicaceae. Son alógamas, con raíz delgada y fusiforme, tallos erectos de que pueden alcanzar de 0,80 hasta 1,5 m de altura. Se adapta a suelos cercanos a la neutralidad. Es de desarrollo muy rápido y algunas variedades tienen acción anti-nematodos. Es muy sensible al estrés hídrico campo (Suarez 2015).

Se la cultiva por el aceite de sus semillas, forrajera y por sus hojas que pueden comerse como verdura. Capaz de producir una materia verde de 10-20 Tm/ha. El cultivo de mostaza dura de 3-5 meses hasta poder ser cosechada toda la plantación que se encuentra en el campo (**Suarez 2015**).

### 1.3.3.3. Descripción botánica de la planta

Existen diversas mostazas que pertenecen a la misma familia que la *Brassica oleracea* var. *Viridis*, entre las más importantes son: *Brassica nigra* (mostaza negra) es una planta que puede llegar hasta los 3 m de altura y sus semillas son de color oscuro, producidas en pequeñas vainas parecen negras pero son rojizo-marrón. *Synapsis alba* o *Brassica hirta* (mostaza blanca) es una planta similar a la anterior pero de tamaño más pequeño, sus semillas son de calibre más grandes y de color crema. La *Brassica juncea* (mostaza silvestre) es de tamaño pequeño desde los 0.60 m hasta el 1 m de altura y sus semillas son de marrón (Vorojev 2000).

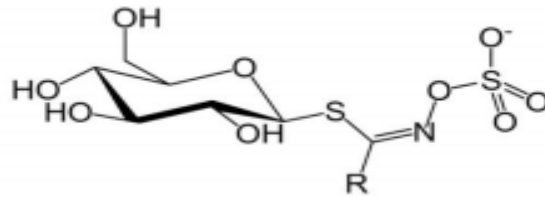
### 1.3.3.4. Cultivo

La mostaza caliente se desarrolla bien en cualquier tipo de suelo, además que soporta condiciones de estrés hídrico. Luego de ser cultivada en el huerto pueden convertirse en un cultivo automático por la rápida propagación. La mostaza caliente se propaga por semillas que germinan entre los 4-8 días y se siembran a una profundidad de dos veces su tamaño (Vorojev 2000).

La siembra puede ser directa: a chorrillo y al voleo, o indirecta: por trasplante de semilleros cuando las plántulas hayan obtenido una altura de alrededor de 5-10 cm. La mejor temporada de siembra es en los meses de invierno, el trasplante se lo realiza a una distancia de 25-30 cm entre plantas a 80 cm entre hileras. En los huertos familiares se puede sembrar a alta densidad y asociado con otros cultivos. Cuando se siembra al voleo se debe aclarar o realizar un raleo al cultivo cuando las plantas de mostazas adquieran el tamaño óptimo (Thomas 2004).

Las plantas son de crecimiento muy rápido hasta que lleguen a la etapa de floración esto sucede alrededor de los 2-3 meses después de ser sembradas o trasplantadas. Las semillas pueden ser cosechadas alrededor de los 5-6 meses (Vorojev 2000). Uno de los ingredientes químicos característicos de la familia Brassicaceae, que sólo se ha encontrado en otros dos géneros vegetales, *Drypetes* y *Putranjiva* (Familia. *Putranjivaceae*), son los conocidos como aceites de

mostaza. Específicamente se trata de los glucosinolatos (tioglucósidos;  $\beta$ -tioglucósidos Nhidroxi-sulfatos) presentes en toda la familia cuya estructura general se presenta en la figura 1 (Gilabert 2012). Existen distintos tipos de glucosinolatos dependiendo de los grupos funcionales presentes en R.



**Figura N° 1** . Estructura general de los glucosinolatos.

#### 1.3.4. *Fusarium oxysporum*

Es una enfermedad muy importante en todos los lugares donde se cultiva, pues causa la marchitez y muerte de la planta. Fue detallada por primera vez en Inglaterra en 1895, y ahora en la actualidad es de distribución mundial, teniendo reportes en más de 40 países (Semini, 2017). Esta enfermedad es de origen americano, lo que explica el alto número de enemigos naturales, de las cuales se reportan 48 enfermedades importantes, entre las cuales están la marchitez vascular causados por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.). Esta es una de las formas especiales que se conocen de *Fusarium oxysporum*, de amplia distribución mundial y de la cual se desconoce su teleomorfo (Gordon 2017).

Esta enfermedad origina pérdidas entre 21 y 47% en los cultivos, a campo abierto y bajo cubierta; en Ecuador no se tienen datos exactos de las pérdidas generadas por esta enfermedad. El hongo fitopatógeno ataca a las plántulas ocasionando el mal del tallo, que es aventajado por la carencia de lignina, lo que las hace más susceptibles, permitiendo que el patógeno alcance rápidamente los vasos (xilema), causando así la destrucción y el colapso del tejido (Agrios, 2005).

El tejido vascular de una planta afectada cambia su coloración a marrón oscuro. Esta coloración es una de las características de *Fusarium sp.* y es empleada para su identificación; la médula permanece sana y, casualmente, ocurre infecciones en el fruto, que se puede detectar por el cambio de coloración en el tejido vascular dentro de él (Vásquez y Castaño.2017).

El hongo *Fusarium oxysporum*, se encuentra principalmente como saprófito en el suelo, o también como patógeno especializado, denominado forma especial (*Fusarium. sp.*) según el vegetal hospedante. Este hongo se identifica por producir colonias de rápido crecimiento, con una tasa diaria cercana a 10 milímetros en medio papa dextrosa agar (PDA) a 25°C. La morfología de las colonias es muy inestable y puede presentarse en dos tipos, siendo relevante aquella de tipo micelial caracterizada por la producción de abundante micelio aéreo, algodonoso, con una coloración inestable, de blanco a rosado, pero constantemente con un colorante púrpura más intenso en la superficie del agar y pocas microconidias (Seminis. 2017).

#### 1.3.4.1. Las características microscópicas que ayudan a la identificación son:

**Tabla 4.** Características microscópicas para la identificación de *Fusarium oxysporum*

Conidióforos	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Zona de la hifa fértil: Esta puede ser simple o ramificada que soporta la célula conidiógena.</li> </ul>
Células conidiógenas	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Son fiálides simples o ramificadas.</li> <li>● Finas y afiladas o con apariencia de botella.</li> <li>● Cuando las esporas salen de un solo orificio (monofiálides) o de varios (polifiálides).</li> </ul>
Conidias	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Inmóviles y de reproducción asexual.</li> <li>● No todas las especies generan todos los tipos de conidias.</li> </ul>



Esclerotia	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Es una masa de células dura</li> <li>● Inactiva bajo condiciones ambientales perjudiciales.</li> </ul>
Estroma	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Estructura vegetativa maciza.</li> <li>● Desarrollan cuerpos de fructificación en su interior.</li> </ul>

**Tabla 5.** Tipos de conidios de *Fusarium oxysporum*

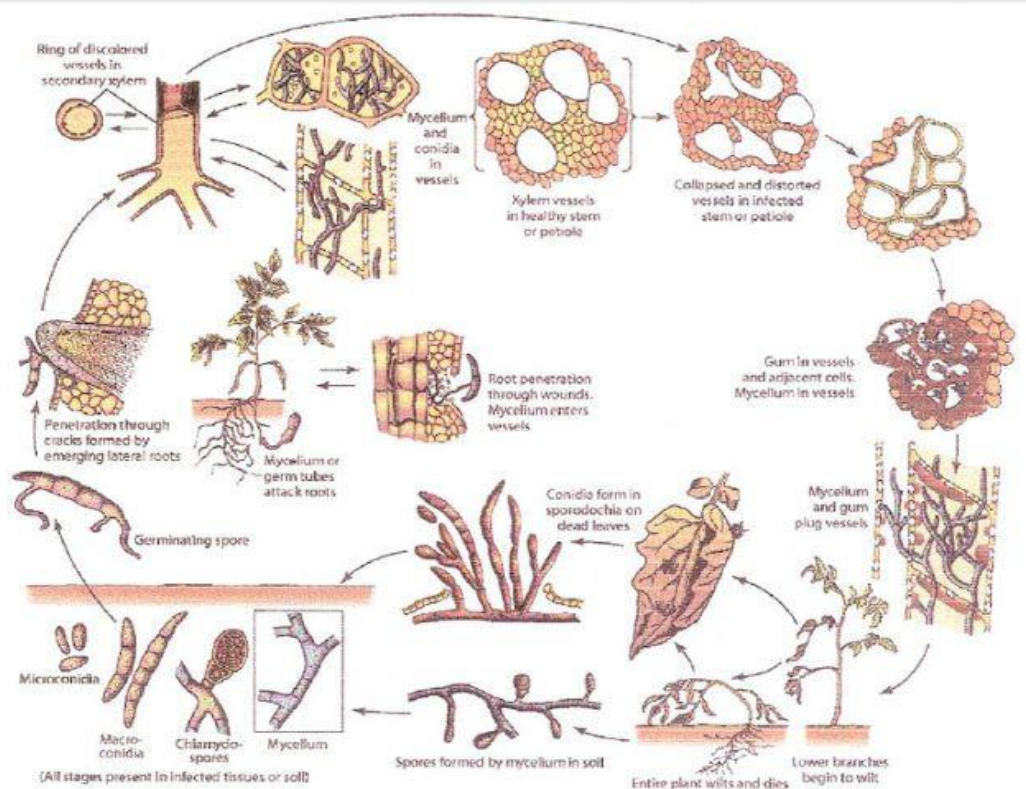
	<b>Tipos de conidios</b>
Macroconidias	<ul style="list-style-type: none"> <li>● De forma de canoa, hialinas y septadas.</li> <li>● La célula apical es alargada y la basal tiene forma de pie.</li> <li>● La célula apical atenuada; tienen un tamaño de 27 a 46 <math>\mu\text{m}</math> de largo por 3.0 a 4.5 <math>\mu\text{m}</math> de ancho</li> </ul>
Microconidias,	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Pequeñas, generalmente unicelulares</li> <li>● De forma variable (ovoides, elipsoidales, subglobosas, piriformes, etc.).</li> <li>● Poseen un tabique y la base es redondeada, apiculada o truncada.</li> <li>● Producen en el micelio aéreo a partir de monofiálides o polifiálides.</li> <li>● Se ven aisladas, en masas o en series.</li> <li>● Tienen 5- 12 <math>\mu\text{m}</math> de largo por 2.5- 3.5 <math>\mu\text{m}</math> de ancho</li> </ul>
Clamidosporas	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Son originadas por modificación de un segmento de la hifa.</li> <li>● Poseen una pared gruesa, y esta puede ser lisa o rugosa.</li> <li>● Se perciben aisladas, en grupos o en series.</li> </ul>

---

Mesoconidias	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Son formas de resistencia, garantizan la supervivencia y propagación del hongo ante ambientes adversos</li> <li>● Poseen un tamaño de 5 a 15 <math>\mu\text{m}</math> de diámetro</li> <li>● Tipo de conidia que posee tamaño y forma similar a las macroconidias pero carecen de la célula basal en forma de pie.</li> <li>● Pueden ser rectas.</li> <li>● Se producen siempre en polifialides y son células individuales.</li> </ul>
Esporodoquia.	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Es una masa de conidióforos cortos y estrechamente ramificados.</li> <li>● Son frecuentemente producidos en la naturaleza que en cultivos invitro</li> </ul>

---

(Monzón y Rodríguez S/F).



**Figura N° 2.** Ciclo de *Fusarium oxysporum*

(Arafat s/f)

Se encuentran en restos de plantas hospedadoras colonizando las raíces, otra causa de propagación es el suelo contaminado, donde el hongo logra mantenerse muchos años a través de las clamidosporas. El agua es un agente de diseminación debido a su capacidad para sobrevivir en ese elemento, las esporas pueden germinar en ella y contaminar los estanques y reservorios. El aire puede ser un transmisor del patógeno en suelo contaminado (Retana et. al,2017).

### 1.3.4.2. Epidemiología

**Millas et al (2017)**, menciona que la temperatura es uno de los factores ambientales de mayor influencia sobre el desarrollo de la enfermedad y en la expresión de los síntomas. La temperatura óptima para el desarrollo del patógeno está entre 25 y 30°C, en donde soporta una mínima de 5°C y una máxima de 37°C, el punto térmico de muerte en el suelo es de 57.5 a 60°C durante 30 minutos. La esporulación ocurre a los 20 y 25°C, en presencia de 12 horas de luz y

12 horas de oscuridad. El pH óptimo es de 7.7 y puede desarrollarse entre 2.2 y 9.0 (**Monzón y Rodríguez ,S/F**).

#### **1.3.4.3. Medidas protectoras ante la enfermedad.**

Esta es una enfermedad que no se puede controlar fácilmente pues afecta al sistema vascular pudiendo llevar al desecamiento y muerte de la planta. Una de las medidas preventivas, está la desinfección de suelo previo a la plantación y evitar los excesos de humedad en la zona del cuello de la planta (**Millas y France ,2017**)

La enfermedad no posee un control químico eficiente, por lo que todas las medidas culturales están enfocadas a prevenir la entrada de la enfermedad utilizando material sano, en lo posible no se debe trabajar en suelos con historial de *Fusarium oxysporum*. En caso de que surja una planta enferma esta debe quemarse (**Dita, 2014**).

## **1.4. HIPÓTESIS**

Los extractos de cola de caballo (*Equisetum spp.*) y mostaza (*Synapsis alba o Brassica hirta*) tienen efecto antifúngico sobre la inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* in vitro

## **1.5. OBJETIVOS**

### **1.5.1. Objetivo general**

Evaluar la actividad antifúngica de los extractos sobre el hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum*

### **1.5.2. Objetivos específicos**

- Probar la actividad antifúngica del extracto de cola de caballo (*Equisetum spp.*) y mostaza (*Synapsis alba o Brassica hirta*) a diferentes concentraciones para la inhibición del crecimiento del hongo fitopatógeno.
- Determinar el extracto con mayor eficiencia sobre el crecimiento micelial del hongo *Fusarium oxysporum*.
- Determinar alternativas enfocadas al uso de extractos de cola de caballo y mostaza que permitan el control de fusarium

## **CAPÍTULO II**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **2.1. Ubicación del experimento (ensayo)**

El ensayo se ejecutó en la provincia de Tungurahua, cantón Cevallos en los laboratorios del campus Querochaca, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, en la Universidad Técnica de Ambato, ubicado a 2 865 msnm (01°22'02''S; 78°36'20'O) (**Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología del Ecuador, 2019**).

#### **2.2. Características del lugar**

Para el experimento se utilizó los Laboratorios de Sanidad vegetal de la Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias, mismo que cuentan con condiciones de ambiente controlado, conservándose a una temperatura promedio de 18°C y una humedad del 70%.

#### **2.3. Equipos y materiales**

##### **2.3.1. Equipos**

- Estufa
- Rotavapor
- Cámara de flujo laminar
- Autoclave
- Molino
- Plato caliente
- Balanza
- Refrigerador

### **2.3.2. Materiales**

- Material vegetal (cola de caballo y mostaza caliente)
- Cajas Petri
- Puntas para sembrar microorganismos
- Lámpara de alcohol
- Papel parafilm
- Embaces plásticos estériles
- Frascos de vidrio ámbar
- Papel filtro
- Matraz
- Embudos
- Papel aluminio
- Probetas
- Puntas de plástico
- Pipetas
- Vasos de precipitación
- Bisturí
- Tijeras

### **2.3.3. Reactivos**

- Etanol
- Agua destilada
- Agar Papa Dextrosa (PDA)
- Antibióticos (Rifamixina )
- Fungicida (Tebuconazole +Trifloxystrobin)

## **2.4. Factores de estudio**

### **2.4.1. Extractos vegetales**

E1= Mostaza

E2 =Cola de caballo

### 2.4.2. Dosis de aplicación

D1= 5%

D2 =7,5%

D3 =10%

## 2.5. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

### 2.5.1. Tratamientos

Los tratamientos constituyen la combinación de los factores en estudio:

**Tabla 6.** Tratamientos

Numero	Simbología	Producto	Dosis
1	E1 D1	Extracto de Mostaza	5%
2	E1 D2	Extracto de Mostaza	7,5 %
3	E1 D3	Extracto de Mostaza	10 %
4	E2 D1	Extracto de Cola de caballo	5%
5	E2 D2	Extracto de Cola de caballo	7,5 %
6	E2 D3	Extracto de Cola de caballo	10 %
7	T	Testigo (sin aplicación de producto)	-----
8	TQ	Producto químico (Tebuconazole +Trifloxystrobin)	-----

### 2.6. Diseño experimental

Se aplicó un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) con 3 repeticiones con arreglo factorial es 3 x 2 +2, se efectuarán análisis de varianza y pruebas significativas Tukey al 5%, para los tratamientos.



### 2.6.1. Características del ensayo

---

Características del ensayo	
Número de repeticiones:	3
Número de tratamientos:	8
Número total de unidades experimentales:	24
Unidad experimental	5 cajas

---

## 2.7. MANEJO DEL EXPERIMENTO

### 2.7.1. Recolección de especies vegetales

Se recogió 2 kg de las plantas en estudio, las mismas que se deben recolectar cuando éstas se encuentran en floración, etapa fenológica en la que tiene la máxima expresión de metabolitos secundarios.

### 2.7.2. Recolección de agente causal (*Fusarium oxysporum*)

Se recolectó plantas enfermas en fundas estériles y se identificó el agente causal de la enfermedad, para verificación de síntomas. Posteriormente se incubó el hongo en una cámara húmeda, la misma que previamente se esterilizó y humedeció con agua destilada (Flores *et. al.*, 2015),

### 2.7.3. Aislamiento del agente causal

Se colocó las muestras con el agente causal en la cámara húmeda a temperatura ambiente, luego el micelio se diseccionó y sembró en cajas Petri con PDA . Se incubó el cultivo a condiciones

controladas:  $25 \pm 2$  °C de temperatura y 75 % de humedad, parámetros expuestos por **Flores et. al., (2015)**, para el correcto desarrollo del hongo.

#### **2.7.4. Obtención de extractos vegetales**

##### **2.7.4.1. Obtención por maceración**

Para la obtención de los extractos hidroalcohólicos:

1. Se realizaron los extractos hidroalcohólicos en una proporción 50:50 de los disolventes (alcohol etílico y agua destilada).
2. Se pesaron 200 g del material vegetal triturado.
3. Se añadió 500 ml de agua destilada y 500 ml de alcohol etílico al 99,6 %.
4. La mezcla se colocó en un vaso de precipitación de 1000 ml.
5. Se trabajó con un agitador magnético para que tenga una mezcla homogénea a 100°C y 800 rpm.
6. La solución caliente se filtró a través de un lienzo para eliminar lo sólidos.
7. El extracto se guardó en una botella ámbar de 1000 ml etiquetada respectivamente y almacenándolo a una temperatura de 4 °C.
8. Luego se colocó aproximadamente entre 500 a 700 ml del en el balón de vidrio del rotavapor y con el baño María se calentó el extracto a 74°C con una constante rotación de 202 rpm, hasta obtener un volumen de alrededor de 150 a 250 ml para los extractos hidroalcohólicos lográndose así la mayor evaporación del disolvente ( **Flores et. al., 2015**).

##### **2.7.5. Aplicación y siembra en los extractos.**

Una vez realizada la purificación de la enfermedad en cajas Petri, se procedió a sembrar con la ayuda de una punta de micropipeta esterilizada recortamos sobre el agar con el patógeno, obteniendo un diámetro conocido para empezar las mediciones en el presente ensayo se tomó una punta de micropipeta de 5 mm de diámetro. En el proceso de siembra se utilizó 2 azas

esterilizadas en el autoclave, un mechero de alcohol, guantes. Luego de esta etapa se procedió a sembrar en las cajas Petri ya etiquetadas previamente.

La aplicación del extracto se realizó siguiendo la metodología de **Vera y Esparza (s/f)** en donde se utiliza el medio envenado que consiste en añadir el extracto al medio de cultivo utilizando jeringas y realizando la dosificación adecuada según lo planteado en el ensayo. En el presente ensayo se utilizó las concentraciones del 5%, 7,5% y 10%. Se preparó 95ml de agar y se aforó 5ml de extracto para tener al 100% de la disolución. Y así los demás tratamientos.

## **2.8.VARIABLES RESPUESTAS**

### **2.8.1. Determinación de curva de crecimiento micelial**

Se inoculó en el centro de una caja petri, con 15 ml de medio de cultivo, se incubó a 25 °C luego se realizó las mediciones del crecimiento micelial la cual se registró a las 48, 96, 144 horas. La toma de datos se realizó con la ayuda de un pie de rey marca Kdrion.

### **2.8.2. Porcentaje de Inhibición Micelial (% IM)**

El porcentaje de inhibición micelial se los medirá a intervalos de 48, 96, 144 horas. Con la fórmula planteada por **Ochoa et al. (2012)**.

$$\% \text{ Inhibicion} = \frac{(\text{crecimiento micelial del testigo} - \text{crecimiento micelial del tratamiento})}{(\text{crecimiento micelial del testigo})} * 100$$

## **2.9.PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN**

Para el cálculo y análisis de los datos de crecimiento del hongo en el medio de cultivo, se utilizó el programa Excel 2016, mientras que para la interpretación de los resultados obtenidos se

utilizó el ANÁLISIS DE VARIANZA (ADEVA) y la prueba de comparación de medias de Tukey al 5%, aplicando el Software Estadístico INFOSTAT.

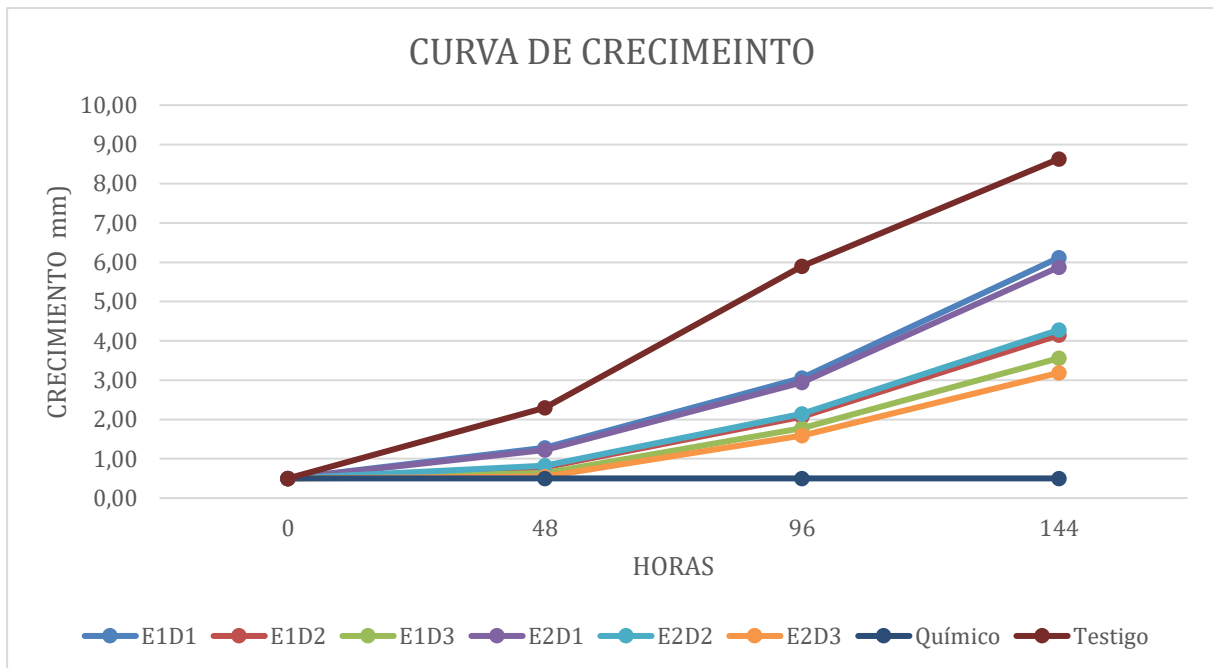
### CAPITULO III

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Análisis de resultados

##### 3.1.1. Curva de crecimiento de los diferentes tratamientos

El crecimiento micelial, se registró a las 48, 96 y 144 horas.



**Figura N° 3.** Curva de crecimiento de los diferentes tratamientos

En la figura 3. Se muestra la curva de crecimiento evidenciando un mayor nivel de crecimiento del testigo. Este representa el crecimiento de *Fusarium oxysporum* de forma aritmética. Así a la hora 0 una medida del 0,5 mm que es el diámetro de inicio, luego de pasado las 48 horas se puede notar que el crecimiento es de 2,30 mm de diámetro, mientras el tiempo avanza la crecimiento continua obteniendo así a las 96 horas una medida de 5,90 mm de diámetro y al finalizar el ensayo las 144 horas se observó un crecimiento de 8,63 mm. Para el levantamiento de datos se utilizó un calibrador vernier marca Kdrion, se midió por la parte posterior para evitar errores en la toma de datos pues el micelio en la parte aérea tiende a cambiar y alterar los datos.

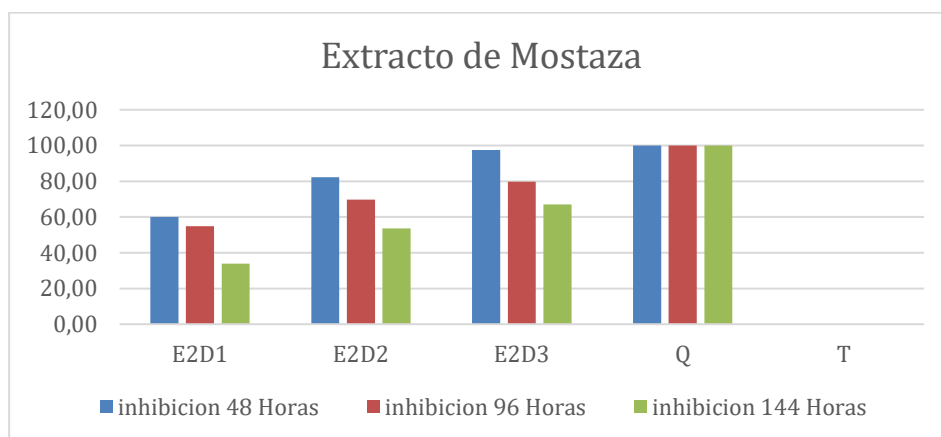
Por su parte los tratamientos E1D1 y E2D1 a las 48 horas muestran una media de crecimiento de 1,28 mm y 1,22 mm respectivamente, luego de 96 horas de incubación se obtuvo una media de crecimiento de 3,06mm para el tratamiento E1D1 y 2,94mm para el tratamiento E2D1. Al finalizar el ensayo a las 144 horas los tratamientos E1D1 y E2D1 tuvieron una media de crecimiento de 6,12mm y 5,88mm respectivamente.

Los tratamientos E1D3 y E2D3 mostraron una reducción en el crecimiento, a las 48 horas muestran una media de crecimiento de 0,64 mm y 0,55 mm respectivamente, luego de las 96 horas de incubación se obtuvo una media de crecimiento 1,78mm para el tratamiento E1D1 y 1,59mm para el tratamiento E2D1. Al finalizar el ensayo a las 144 horas los tratamientos E1D1 y E2D1 tuvieron una media de crecimiento de 3,56mm y 3,19mm respectivamente.

### 3.2.1. Evaluación del porcentaje de inhibición en el desarrollo del micelio

Luego de haber sembrado y dejado incubar a una temperatura de 25 °C se determinó la inhibición del crecimiento micelial a las 48,96 y 144 horas.

#### 3.2.1.1. Porcentaje de inhibición en el extracto de mostaza caliente



**Figura N° 4.** Porcentaje de inhibición en el extracto de mostaza

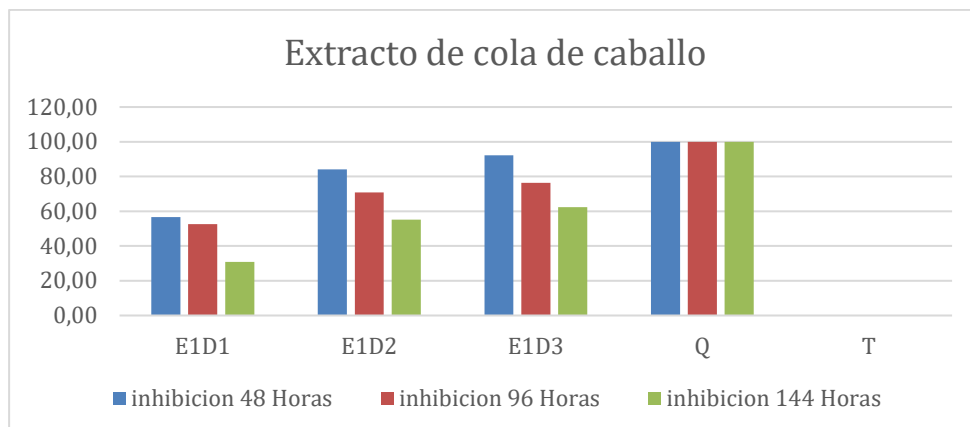
En la figura N°4 nos muestra que a las 48 horas los extractos de mostaza al 10% (E2D3) obtuvieron una media de inhibición del 97,4% mientras que a una concentración del 5% se obtuvo una media de inhibición de 60% para el extracto de mostaza(E2D1). Siendo el tratamiento E2D3 en esta etapa estadísticamente iguales y eficientes como el testigo químico.

Después de las 96 horas de incubar las cajas Petri se observó que la eficacia de los extractos disminuye a medida que el tiempo de incubación se alarga. Los datos de los tratamientos E2D3 obtuvieron una media de inhibición del 79.7% mientras que para el tratamiento E2D1 se obtuvo una media de inhibición de 54,8%. Mostrando claramente que las concentraciones son la principal causa en la inhibición del micelio.

Una vez finalizado el ensayo a las 144 horas se observó que los extractos han disminuido considerablemente el porcentaje de inhibición. Obteniendo resultados del 67,0% de inhibición siendo un resultado favorable pues sigue controlando más del 50% del desarrollo micelial.

#### **3.2.1.2. Porcentaje de inhibición en el extracto de cola de caballo**

Las mediciones para el extracto de caballo tuvieron las mismas características de tiempo y temperatura generando los siguientes resultados.



**Figura N° 5.** Porcentaje de inhibición en el extracto de cola de caballo

En la figura N° 5 nos muestra que luego de las 48 horas el extracto de cola de caballo al 10%(E1D3) tuvo una inhibición del 92,2% y que a la concentración de 5% (E1D1) genero una media de inhibición de 56,6%. Siendo en esta etapa estadísticamente iguales y eficientes como el testigo químico.

A las 96 horas de incubación el tratamiento E1D3 mostró una media del 76,3% de inhibición mientras que para el tratamiento E1D1 se determinó el 52,5% de inhibición. Mostrando que el extracto aún tiene un control positivo sobre el desarrollo micelial.

Mientras a las 144 horas de la toma de datos los tratamientos E1D3 generaron el 62,4% de inhibición siendo un control positivo a nivel in vitro. Teniendo en cuenta que los metabolitos secundarios no identificados están generando la acción inhibidora sobre *Fusarium oxysporum*.

El testigo de comercial (Tebuconazole +Trifloxystrobin) obtuvo un 100% de la inhibición en el crecimiento micelial en las diferentes mediciones a las 48, 96 y 144 horas.

**Sánchez et al.(2015)**,dentro de su investigación menciona el efecto inhibitorio de mostaza vs *Fusarium oxysporum* y otros hongos teniendo resultados similares a los del ensayo planteado, recalando que los extractos tienen una mayor eficiencia cuando la concentración es mayor



puesto que algunos extractos inhiben el desarrollo del micelio y otros inhiben la producción de conidios, las dosis que evaluó fueron 0,1; 1,0; y 10  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . En los resultados obtenidos por Sánchez et al.(2015) mostró el que el extracto del vástago + la flor blanca de la mostaza a una dosis del 10  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  fue el que inhibió el 47,85% del desarrollo micelial a los 5 días(120 horas). Mientras que en los resultados obtenidos en el presente ensayo se obtuvo una inhibición del 67% del desarrollo micelial; esto se pudo variar gracias a la concentración y al tiempo pues se evaluó a las 144 horas con una concentración del 10% del extracto.

**Alonzo et al.(2009)** en su trabajo de investigación realizó una prueba con el extracto de cola de caballo y otras plantas teniendo un resultado negativo aduciendo que la concentración era muy baja pues la dosis utilizada en esa investigación fue de 0.25ml. A diferencia de los resultados obtenidos en esta investigación en donde el extracto de cola de caballo alcanzo un 62,4% siendo uno de los más significativos estadísticamente. Cabe recalcar que como menciona **Sánchez et al. (2015)** esto dependería de la dosificación y el método de extracción.

## CAPITULO IV

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1. CONCLUSIONES

- Se evaluó la actividad antifúngica de dos extractos en el ataque de *Fusarium oxysporum*: cola de caballo (*Equisetum spp.*) y mostaza (*Synapsis alba* o *Brassica hirta*).
- Los mejores porcentajes de inhibición fueron dados por los tratamientos E1D3 y E2D3 con el 62,4% y el 67% respectivamente a las 144 horas. Esto se debe a las concentraciones del 10% de los extractos que indujeron a una respuesta de inhibición. Teniendo un control positivo de más del 50% de desarrollo micelial generando una alternativa ecológica para el control de *Fusarium oxysporum*.
- El tratamiento que mostró mayor eficiencia sobre el crecimiento micelial del hongo *Fusarium oxysporum* fue el extracto de mostaza en todas las mediciones ya que obtuvo un menor crecimiento micelial matemáticamente. Pues estadísticamente no se obtuvo diferencia significativa, es decir que el extracto de cola de caballo también fue muy eficiente al momento de inhibir el desarrollo micelial.
- Dentro de la agricultura amigable con el ambiente se conoce el uso de alternativas que permitan el control de hongos fitopatógenos como *Fusarium oxysporum*, como son la aplicación de extractos de origen vegetal como cola de caballo (*Equisetum spp.*) y mostaza (*Synapsis alba*) pues actúan gracias a la presencia de metabolitos secundarios como son saponinas, alcaloides, taninos y los glucosinolatos respectivamente.

#### 4.2. RECOMENDACIONES

- Investigar sobre el principio activo de la planta cola de caballo y mostaza caliente además de su modo de acción en contra de los hongos.

- Cuantificar el ingrediente activo para tener mejores resultados en futuras investigaciones.
- Realizar pruebas en campo abierto para comprobar la eficacia de los extractos propuestos

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonzo,G.; Letrán,H. y Sánchez,J. 2009. “ACTIVIDAD INHIBITORIA DE EXTRACTOS VEGETALES SOBRE HONGOS FITOPATOGENOS”. En línea disponible en <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QB927.pdf>
- Arafat. D, s/f. Imagen del fusarium. En línea consultado el 23/09/19. Disponible de <https://www.google.com/url?sa=i&source=images&cd=&ved=2ahUKEwiAxJXf5ufkAhXhuFkKHdfnDVwQjRx6BAgBEAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.pinterest.es%2Fdrkhaledarafatp%2F&psig=AOvVaw2qDuX6LR9MXG0hAF0eQzmN&ust=1569356763131065>
- Báez, M; Troncoso, R, & Tiznado, M. 2011. Respuestas Genéticas Provocadas por el Tratamiento con Isotiocianatos en Hongos del Género *Alternaria*. *Revista mexicana de fitopatología*, 29(1), 61-68. Consultado 12 abril 2019, de Disponible [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33092011000100006&lng=es&tlng=pt](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092011000100006&lng=es&tlng=pt).
- Barrera,L.; Bautista,S. 2010. Métodos De Inoculación y Evaluación De Extractos Botánicos E Isotiocianatos De La Familia Brassicaceae En El Control De La Roya Del Gladiolo. En línea Consultado 12 abril 2019 disponible de <https://chapingo.mx/revistas/phpscript/download.php?file=completo&id=MTIxMw==>
- Cáceres, K. 2018. Efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Equisetum arvense* (cola de caballo) sobre el *Streptococcus mutans*, Puno – 2018 .En línea disponible en [http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/9628/Caceres\\_Lupaca\\_Katerin.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/9628/Caceres_Lupaca_Katerin.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Cano, G. 2016. Evaluación de tres extractos vegetales para el control de plagas en el cultivo de frijol arbustivo *Phaseolus vulgaris* L. Tesis de grado. Universidad de Manizales. Recuperado de <http://ridum.umanizales.edu.co:8080/xmlui/bitstream/handle/6789/2859/Gildardo%20A%20Cano%20Piedrah%C3%ADta%202016.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

y&fbclid=IwAR1d9NzVDrDwCoRvPnuFx9\_2-i-4OSNLpVpPqxL0bvDd3KIxM56BG8arRvo

Carreño, N., Vargas, A., Bernal, A y Restrepo, S. 2007. Problemas fitopatológicos en especies de la familia Solanaceae causados por los géneros Phytophthora, Alternaria y Ralstonia en Colombia. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, 25(2), 320-329.

Chango. A, 2015. EFECTO DE LA MOSTAZA CALIENTE EN SUELO HORTÍCOLA INFESTADO POR NEMATODOS.” .En línea consultado el 16/09/2019. Disponible en <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/18309/1/Tesis-114%20%20Ingenier%C3%ADa%20Agron%C3%B3mica%20-CD%20369.pdf>

Chávez, A., y Aquino ,S. 2012. Control de los hongos del suelo Rhizoctonia sp., Fusarium sp. y Sclerotium sp. con extractos vegetales. *Investigación Agraria*, 14(1), 17-23. En línea consultado 13 abril 2019 disponible de [http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2305-06832012000100003](http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2305-06832012000100003)

Mucete, D.; Borozan, A.; Radu,F. y Jianu.I (s/f) ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ISOTHIOCYANATES, ACTIVE PRINCIPLES IN ARMORACIA RUSTICANA ROOTS (I) .*Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, Volume XII, No. 2 .2006, 443-452 Full Paper - Natural Food Extracts and Additives Section. consultado 12 abril 2019 Disponible de [https://www.journal-of-agroalimentary.ro/admin/articole/63930L67\\_Antibacterial\\_Activity\\_of\\_Isothiocyanates,\\_Active\\_Principles\\_in\\_Armoracia\\_Rusticana\\_Roots\\_\(I\).pdf](https://www.journal-of-agroalimentary.ro/admin/articole/63930L67_Antibacterial_Activity_of_Isothiocyanates,_Active_Principles_in_Armoracia_Rusticana_Roots_(I).pdf)

Dita, M. 2014. La marchitez por Fusarium de las Musáceas: Historia, síntomas, importancia económica, estado actual de la Raza Tropical 4 y acciones regionales para la prevención de su entrada en las Américas . En línea consultado 13 abril 2019 disponible de [http://www.fao.org/fileadmin/templates/banana/documents/02\\_M\\_Dita\\_Taller\\_Changuinola\\_2014\\_a.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/banana/documents/02_M_Dita_Taller_Changuinola_2014_a.pdf)

Flores, M; Martínez, M; Rodríguez, J; Nieto,A; Daniel, Colinas,M; y Martínez,J .2015. Efecto del jugo de brócoli y cambios químicos en la inhibición de Alternaria en arúgula mínimamente procesada. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 6(6), 1163-1176. En línea consultado en 12 abril 2019, disponible de

[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-09342015000600002&lng=es&tlng=pt](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342015000600002&lng=es&tlng=pt).

Gallardo, J.; Esparza, M.; y Gómez, A. 2006. Importancia etnobotánica de una planta vascular sin semilla en México: Equisetum. *Polibotánica*, (21), 61-74. [Fecha de consulta 3 de febrero de 2020]. ISSN: 1405-2768. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=621/62102103>

García, D., Ramos, A. J., Sanchis, V., y Marín, S. 2012. Effect of equisetum arvense and stevia rebaudiana extracts on growth and mycotoxin production by aspergillus flavus and fusarium verticillioides in maize seeds as affected by water activity. *International Journal of Food Microbiology*, 153(1), 21-27.

García, C. y Rodríguez, G. 2012. PROBLEMÁTICA Y RIESGO AMBIENTAL POR EL USO DE PLAGUICIDAS EN SINALOA. *Ra Ximhai*, 8 (3b), 1-10. [Fecha de Consulta 6 de Octubre de 2020]. ISSN: 1665-0441. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=461/46125177005>

Gilabert, J. 2012. Qué componentes no nutritivos, pero relevantes para la salud. En línea consultado en 12 abril 2019 disponible de [https://www.ucm.es/data/cont/docs/429-2015-10-31-brassica\\_JAGilabert.pdf](https://www.ucm.es/data/cont/docs/429-2015-10-31-brassica_JAGilabert.pdf)

González, I; Arias, Y. y Peteira, B. 2012 En línea consultado en 12 abril 2019 disponible de <http://revistas.censa.edu.cu/index.php/RPV/article/viewFile/114/104>

GORDON, T. 2017. Fusarium oxysporum and the Fusarium wilt syndrome. *Ann. Rev. Phytopathology*. 55:23-39

Gründemann, C., Lengen, K., Sauer, B., Garcia, M., Zehl, M., y Huber, R. 2014. Equisetum arvense (common horsetail) modulates the function of inflammatory immunocompetent cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(1), 283.

Hernández, C.; Castillo, R.; Gallegos, M.; Rodríguez, H. y Aguilar, N. 2011. Plant Extracts from Mexican Native Species; An Alternative for Control Of Plant Pathogens. In; RaumjitNokkoul. *Organic Farming*. Ed. Intech. Croatia. 139-156 pp

Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología del Ecuador (2019). En línea consultado el 16/09/2019. Disponible en <http://www.serviciometeorologico.gob.ec/>

- Iriarte, L.; Sosa, M. y Reybet, G., 2011 Efecto de la biofumigación con repollo sobre el control de *Fusarium oxysporum* en suelo RIA. Revista de Investigaciones Agropecuarias, vol. 37, núm. 3, diciembre, 2011, pp. 231-237 Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Buenos Aires, Argentina. En línea consultado en 12 abril 2019 disponible de <https://www.redalyc.org/pdf/864/86421245007.pdf>
- Lizcano, M. . 2007. Evaluación de la actividad antifúngica del extracto de tomillo (*Thymus vulgaris*) contra *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* y *Sclerotinia sclerotium*. En línea disponible de <https://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis100.pdf>
- Llivicura, A., 2018. Comparación in vitro de la actividad antifúngica de extractos etanólicos de Romero (*Rosmarinus officinalis*) y Cola de caballo (*Equisetum arvense*), frente al hongo *Collectotrichum gloeosporioides*. En línea consultado el 16/09/2019. Disponible en <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16513/1/UPS-CT008003.pdf>
- López, A., López, S., Vázquez, M., Rodríguez, S., Mendoza, M., y Padrón, E. 2005. Inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* Schlechtend. f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Verticillium dahliae* Kleb. mediante extractos vegetales acuosos. Revista Mexicana de Fitopatología 23:183-190. Resumen. Se evaluó el efecto inhibitorio
- Millas, P & France, A. 2017. Marchitez vascular en tomate. En línea consultado en 12 abril 2019 disponible de <http://www.inia.cl/wp-content/uploads/FichasTecnicasSanidadVegetal/Ficha%2073%20Marchitez%20vascular%20en%20tomate.pdf>
- Monzón, A, & Rodríguez, J.S/F. INFECCIONES CAUSADAS POR EL GÉNERO *Fusarium*. En línea consultado 13 abril 2019 disponible de <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/micologia/fusarium.pdf>
- Ochoa, Y.; Chávez, C.; Landeros, J.; Hernández, S. y Delgado, J. 2012. Evaluación in vitro de la actividad antifúngica de cuatro extractos vegetales metanólicos para el control de tres especies de *Fusarium* spp. En línea disponible en [http://revistaphyton.fundromuloraggio.org.ar/vol81/9-OCHOA\\_FUENTES.pdf](http://revistaphyton.fundromuloraggio.org.ar/vol81/9-OCHOA_FUENTES.pdf)
- Ortega, O., D. Guillén., Ramos, M., R. Troncoso, Villanueva, A., Bosquez, E., Pacheco, R., Aslcedo, R. y Barboza, J. 2018. Extractos crudos de brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*)

- con efecto de actividad inhibitoria contra bacterias y levaduras patogenas de importancia en salud humana y hongos fitopatógenos. En línea consultado 13 abril 2019 disponible de <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume3/4/2/11.pdf>
- Paunero, I. 2009. Evaluación fenológica de cultivares de mostaza (*Sinapis alba* L.) en San Pedro. Campaña 2008. Consultado el 07 de julio del 20015. Disponible en: [http://www.inta.gov.ar/busqueda/p/buscar/evaluacion%20fenologica%20de%20cultivares%20de%20mostaza/type/0\\_\\_all](http://www.inta.gov.ar/busqueda/p/buscar/evaluacion%20fenologica%20de%20cultivares%20de%20mostaza/type/0__all)
- Perniola, O.; Chorzempa, S.; Staltari, S.; & Molina, María. 2016. Biofumigación in vitro con *Brassica juncea* y *Sinapis alba*. Inhibición de la germinación y del crecimiento de plántulas de malezas.. *Revista de la Facultad de Agronomía*. 115. 91-98.
- Bioagro.2015. *Raphanus raphanistrum* L. SOBRE TRES HONGOS FITOPATÓGENOS. *Bioagro* 27(1): 3-10. 2015. En línea disponible en <https://docplayer.es/20148106-Evaluacion-de-la-actividad-antifungica-de-extractos-etanolicos-de-dos-morfotipos-de-raphanus-raphanistrum-l-sobre-tres-hongos-fitopatogenos.html>
- Retana, K.; Ramírez, J.; Castro, O. y Blanco, M. 2017. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE *Fusarium oxysporum* F. SP. APII ASOCIADO A LA MARCHITEZ DEL APIO EN COSTA RICA. En línea disponible de <https://www.scielo.sa.cr/pdf/ac/v42n1/0377-9424-ac-42-01-115.pdf>
- Reyes, B. 2014. Acción antifúngica in vitro de extractos vegetales para el control de patógenos de semillas de *Switenia macrophylla* King (caoba hondureña). *Revista de Protección Vegetal*, 29(2), 155. Consultado 16 mayo 2019, disponible de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-27522014000200017](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522014000200017)
- Rodríguez, D.y Montilla, J. 2002. Disminución de la marchitez causada por *Fusarium* en tomate con extracto de *Citrus paradisi*. En línea consultado en 16 mayo 2019 disponible de <http://www.sidalc.net/repdoc/A2100e/A2100e.pdf>
- Rodríguez, T.; Ramírez, M., Bautista, S.; Cruz, A. y Rivero, D., 2011. Actividad antifúngica de extractos de *Acacia farnesiana* sobre el crecimiento in vitro de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. En línea consultado en 16 mayo 2019 disponible de <http://www.bioline.org.br/pdf?cg12011>



- Sánchez, G.; Vargas, A.; y Jiménez, P. 2015. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE DOS MORFOTIPOS DE
- Sandhu, N. S., Kaur, S., y Chopra, D. 2010. Equisetum arvense: Pharmacology and phytochemistry—a review. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 3(3), 146-150.
- Seminis. 2017. Qué Es Y Cómo Ataca El Fusarium ,En línea consultado en 16 mayo 2019 disponible de <https://www.seminis.mx/blog-que-es-y-como-ataca-el-fusarium/>
- Suárez, J. 2015. Evaluación de la eficiencia de productos orgánicos y biológicos en el control del nematodo agallador (*Meloidogyne* sp) en tomate riñón 54 (*Lycopersicon esculentum*) bajo invernadero en la zona de Natabuela provincia de Imbabura. Universidad Técnica de Babahoyo Facultad de Ciencias Agropecuarias Escuela de Ingeniería Agronómica. Carchi. Ecuador. 64 p
- Tayupanta, V. 2012. Control in vitro de *Botrytis (Botrytis cinérea)*, mildiu (*Bremia lactucae*) y esclerotinia (*Sclerotinia sclerotiorum*) en lechuga (*Lactuca sativa* ) usando extractos de Cola de caballo (*Equisetum arvense*), Ortiga, (*Urtica dioica* ), Ruda (*Ruta graveolens*) y Tomillo (*Thymus vulgaris*). En línea consultado el 16/09/2019. Disponible en <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/3704/6/UPS-YT00199.PDF>
- Tejeda, M. 2003 Estudio Etnobotánico de las plantas medicinales de 6 comunidades del municipio de San Juan Chamelco del departamento de Altaverapaz. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, facultad de Agronomía) 2003. (p.90, 91, 349, 350, 351).
- Thomas , k. 2004. Composición nutricional de semillas polvo y aceites de mostaza. Fundación Universidad de las Américas Puebla, Mexico. 9 p
- Vásquez, L.& Castaño, J.2017. MANEJO INTEGRADO DE LA MARCHITEZ VASCULAR DEL TOMATE [*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (SACC.) W.C. SNYDER & H.N. HANSEN]: UNA REVISIÓN En línea consultado en 16 mayo 2019 disponible de: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v20n2/v20n2a14.pdf>
- Villa, A., Perez, R., Morales, H., Basurto, M., Soto, J. y Martines, E. 2014. Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales.

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal, 64(2): 194-205.

Vorojev, A. 2000. Composición de ácidos grasos de los aceites de mostaza amarilla *brassica alba* y mostaza café *brassica júncea*. Fundación Universidad de las Américas Puebla, Mexico. 9 p

## 6.1. ANEXOS

### Anexo 1. Análisis estadístico ADEVA

InfoStat/L - [Resultados]

Archivo Edición Datos Resultados Estadísticas Gráficos Ventanas Aplicaciones Ayuda

0,00 0,00 A A<sup>+</sup> A<sup>-</sup>

Nueva tabla : 6/10/2020 - 15:32:03 - [Versión : 30/4/2020]

#### Análisis de la varianza

##### 0 hora

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
0 hora	120	sd	sd	0,00

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,00	7	0,00	sd	sd
TRATAMIENTO	0,00	7	0,00	sd	sd
Error	0,00	112	0,00		
Total	0,00	119			

##### 48 h

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
48 h	120	0,95	0,95	13,22

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	37,18	7	5,31	297,05	<0,0001
TRATAMIENTO	37,18	7	5,31	297,05	<0,0001
Error	2,00	112	0,02		
Total	39,18	119			

#### Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,15083

Error: 0,0179 gl: 112

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
TQ	0,50	15	0,03	A
E2D3	0,55	15	0,03	A
E1D3	0,64	15	0,03	A B
E1D2	0,79	15	0,03	B C
E2D2	0,82	15	0,03	C
E2D1	1,22	15	0,03	D
E1D1	1,28	15	0,03	D
T	2,30	15	0,03	E

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

96h

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
96h	120	0,97	0,97	9,82

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	260,60	7	37,23	601,15	<0,0001
TRATAMIENTO	260,60	7	37,23	601,15	<0,0001
Error	6,94	112	0,06		
Total	267,53	119			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,28070

Error: 0,0619 gl: 112

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
TQ	0,50	15	0,06	A
E2D3	1,59	15	0,06	B
E1D3	2,07	15	0,06	C
E1D2	2,07	15	0,06	C
E2D2	2,14	15	0,06	C
E2D1	2,94	15	0,06	D
E1D1	3,06	15	0,06	D
T	5,90	15	0,06	E

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

144 h

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
144 h	120	0,96	0,96	10,03

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	605,75	7	86,54	417,47	<0,0001
TRATAMIENTO	605,75	7	86,54	417,47	<0,0001
Error	23,22	112	0,21		
Total	628,96	119			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,51354

Error: 0,2073 gl: 112

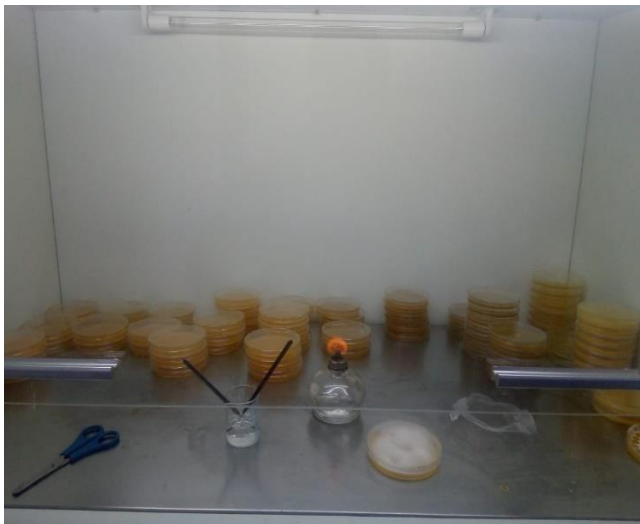
TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
TQ	0,50	15	0,12	A
E2D3	3,19	15	0,12	B
E1D3	3,56	15	0,12	B
E1D2	4,15	15	0,12	C
E2D2	4,28	15	0,12	C
E2D1	5,88	15	0,12	D
E1D1	6,12	15	0,12	D
T	8,63	15	0,12	E

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

## ANEXO 2 FOTOGRAFIAS DEL ENSAYO



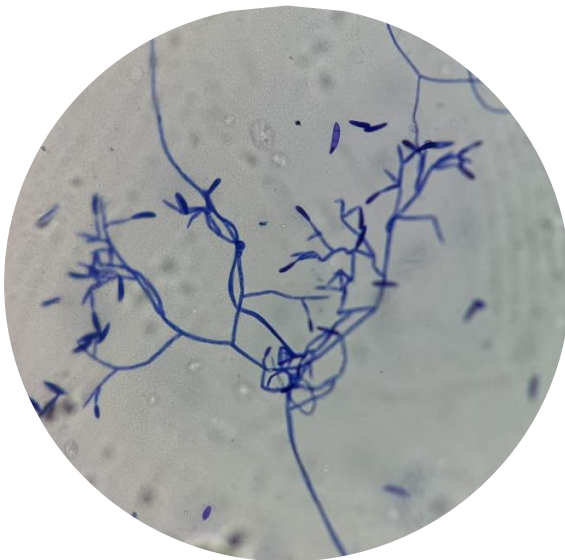
**Identificación de la enfermedad en campo**



**Dispensación e incubación de medio de cultivo**



**Toma de datos**



***Fusarium oxysporum* lente 40x**

### Anexo 3. Datos del extracto de cola de caballo

TRATAMIENTO	hora 0	hora 48	hora 96	hora 144
E1D1	0	0,9	2,8	6,1
E1D1	0	1,3	3,6	7,7
E1D1	0	0,8	2,6	5,7
E1D1	0	0,5	2	4,5
E1D1	0	0,4	1,8	4,1
E1D1	0	0,6	2,2	4,9
E1D1	0	0,9	2,8	6,1
E1D1	0	1	3	6,5
E1D1	0	0,7	2,4	5,3
E1D1	0	1,1	3,2	6,9
E1D1	0	0,8	2,6	5,7
E1D1	0	0,6	2,2	4,9
E1D1	0	0,7	2,4	5,3
E1D1	0	0,8	2,6	5,7
E1D1	0	0,6	2,2	4,9
E1D2	0	0,3	1,6	3,7
E1D2	0	0,4	1,8	4,1
E1D2	0	0,2	1,4	3,3
E1D2	0	0,2	1,4	3,3
E1D2	0	0	1	2,5
E1D2	0	0,5	2	4,5
E1D2	0	0,5	2	4,5
E1D2	0	0,4	1,8	4,1
E1D2	0	0,1	1,2	2,9
E1D2	0	0,3	1,6	3,7
E1D2	0	0,2	1,4	3,3
E1D2	0	0,4	1,8	4,1
E1D2	0	0,3	1,6	3,7
E1D2	0	0,2	1,4	3,3
E1D2	0	0,3	1,6	3,7
E1D3	0	0,1	1,2	2,9

E1D3	0	0,3	1,6	3,7
E1D3	0	0,1	1,2	2,9
E1D3	0	0	1	2,5
E1D3	0	0,1	1,2	2,9
E1D3	0	0,1	1,2	2,9
E1D3	0	0,2	1,4	3,3
E1D3	0	0,1	1,2	2,9
E1D3	0	0,1	1,2	2,9
E1D3	0	0,2	1,4	3,3
E1D3	0	0,1	1,2	2,9
E1D3	0	0,1	1,2	2,9
E1D3	0	0,2	1,4	3,3
E1D3	0	0,1	1,2	2,9
E1D3	0	0,2	1,4	3,3
E1D3	0	0,1	1,2	2,9
E1D3	0	0,3	1,6	3,7

#### Anexo 4. Datos del extracto de mostaza caliente

TRATAMIENTO	hora 0	hora 48	hora 96	hora 144
E2D1	0	0,7	2,4	5,3
E2D1	0	0,6	2,2	4,9
E2D1	0	0,8	2,6	5,7
E2D1	0	0,7	2,4	5,3
E2D1	0	0,6	2,2	4,9
E2D1	0	0,7	2,4	5,3
E2D1	0	0,7	2,4	5,3
E2D1	0	0,8	2,6	5,7
E2D1	0	0,7	2,4	5,3
E2D1	0	0,7	2,4	5,3
E2D1	0	0,6	2,2	4,9
E2D1	0	0,7	2,4	5,3
E2D1	0	0,9	2,8	6,1
E2D1	0	0,7	2,4	5,3
E2D1	0	0,9	2,8	6,1
E2D2	0	0,3	1,6	3,7



E2D2	0	0,3	1,6	3,7
E2D2	0	0,4	1,8	4,1
E2D2	0	0,3	1,6	3,7
E2D2	0	0,3	1,6	3,7
E2D2	0	0,2	1,4	3,3
E2D2	0	0,3	1,6	3,7
E2D2	0	0,4	1,8	4,1
E2D2	0	0,3	1,6	3,7
E2D2	0	0,3	1,6	3,7
E2D2	0	0,4	1,8	4,1
E2D2	0	0,3	1,6	3,7
E2D2	0	0,5	2	4,5
E2D2	0	0,3	1,6	3,7
E2D2	0	0,2	1,4	3,3
E2D3	0	0,1	1,2	2,9
E2D3	0	0	1	2,5
E2D3	0	0,1	1,2	2,9
E2D3	0	0	1	2,5
E2D3	0	0	1	2,5
E2D3	0	0	1	2,5
E2D3	0	0	1	2,5
E2D3	0	0	1	2,5
E2D3	0	0,1	1,2	2,9
E2D3	0	0,1	1,2	2,9
E2D3	0	0,1	1,2	2,9
E2D3	0	0	1	2,5
E2D3	0	0	1	2,5
E2D3	0	0,1	1,2	2,9
E2D3	0	0,1	1,2	2,9

### Anexo 5 Datos del testigo químico

TRATAMIENTO	hora 0	hora 48	hora 96	hora 144
TQ	0	0	0	0

TQ	0	0	0	0
TQ	0	0	0	0
TQ	0	0	0	0
TQ	0	0	0	0
TQ	0	0	0	0
TQ	0	0	0	0
TQ	0	0	0	0
TQ	0	0	0	0
TQ	0	0	0	0
TQ	0	0	0	0
TQ	0	0	0	0
TQ	0	0	0	0
TQ	0	0	0	0
TQ	0	0	0	0
TQ	0	0	0	0
TQ	0	0	0	0

**Anexo 7 Datos del testigo (*Fusarium oxysporum*)**

T	0	1,7	5,3	8,1
T	0	1,8	5,4	8,2
T	0	2,2	5,8	8,6
T	0	1,6	5,2	8
T	0	1,8	5,4	8,2
T	0	2,1	5,7	8,4
T	0	1,8	5,4	8,1
T	0	2	5,6	8,4
T	0	1,8	5,4	8,1
T	0	1,9	5,5	8,2
T	0	1,8	5,4	8,1
T	0	1,8	5,4	8,1
T	0	1,5	5,1	7,7
T	0	1,8	5,4	8,1