



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS



CARRERA DE AGRONOMÍA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Evaluación del efecto antifúngico de hidrolatos de *Cymbopogon citratus* y *Cinnamomum verum* en el control *in vitro* de *Phytophthora infestan*.

DOCUMENTO FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN COMO
REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE INGENIERA AGRÓNOMO

AUTORA:

Jenny Patricia Camino Santiana

TUTOR:

Ing. Mg. Zurita Vásquez José Hernán

CEVALLOS – ECUADOR

2024

APROBACIÓN DE LA TESIS

Evaluación del efecto antifúngico de hidrolatos de *Cymbopogon citratus* y *Cinnamomum verum* en el control *in vitro* de *Phytophthora infestans*.

Revisado por:

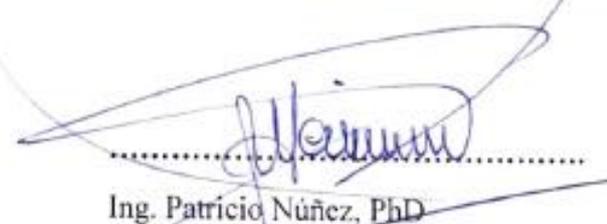


Ing. Mg. Zurita Vásquez José Hernán

TUTOR

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN:

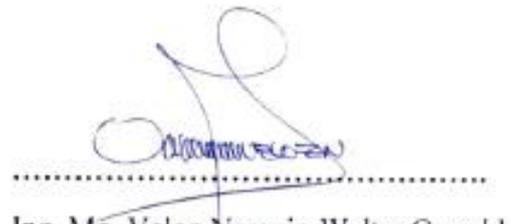
Fecha



.....
Ing. Patricio Núñez, PhD

PRESIDENTE DE TRIBUNAL

.....
07/02/2024



.....
Ing. Mg. Veloz Naranjo Walter Oswaldo

MIEMBRO DE TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

.....
07/02/2024



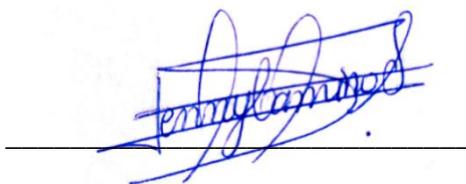
.....
Ing. Leython Chacon Sirli Lilig, PhD.

MIEMBRO DE TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

.....
7/02/2024

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

El suscrito, **JENNY PATRICIA CAMINO SANTIANA**, portador de la cédula de ciudadanía número: 1804605796, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de Investigación titulado: “**Evaluación del efecto antifúngico de hidrolatos de *Cymbopogon citratus* y *Cinnamomum verum* en el control *in vitro* de *Phytophthora infestan*”**, es original, auténtico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido es de mi absoluta responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.



JENNY PATRICIA CAMINO SANTIANA

C.I. 1804605796

AUTORA

DERECHOS DEL AUTOR

“Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “**Evaluación del efecto antifúngico de hidrolatos de *Cymbopogon citratus* y *Cinnamomum verum* en el control *in vitro* de *Phytophthora infestan*”**, como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Ingeniero Agrónomo, 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”.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Jenny Patricia Camino', is written over a horizontal line.

JENNY PATRICIA CAMINO SANTIANA

DEDICATORIA

Dedico mi tesis a mi querida madre, Julia Santiana, quien está a mi lado, ofreciéndome su apoyo y amor infinito en cada página escrita, en cada experimento que realizado y en cada obstáculo superado. Es y será siempre mi pilar de fortaleza y mi mayor motivación, quien me sostuvo incluso cuando las cosas se pusieron difíciles con sus palabras de aliento, sus abrazos reconfortantes y su paciencia infinita. Espero que te sientas orgullosa de ti mismo porque cada logro en esta tesis también es tuyo.

A mi hijo, Julián, tu amor, paciencia y apoyo incondicional han sido mi fuente de inspiración y soporte durante este camino académico. Tu presencia en mi vida me sirvió como recordatorio de la importancia de lograr un equilibrio entre la dedicación académica y las relaciones familiares. Gracias por ser mi mayor fuente de alegría y motivación en la vida.

A mis hermanas, Mónica, Adriana, Sandra y Evelyn. A través de cada una de nuestras experiencias compartidas y el aliento mutuo, hemos crecido juntas y alcanzados metas individuales. Este trabajo refleja nuestro lazo indestructible y la gratitud que siento por tenerlas en mi vida. Espero que este logro sea un testimonio de que juntas podemos alcanzar cualquier meta que nos propongamos. Gracias por su apoyo constante, sus palabras de aliento y esos abrazos interminables en los días oscuros.

A mi padre, Nelson Camino. Gracias papá por llegar a apoyarme en el momento exacto, por guiarme a través de este camino que me ha hecho alcanzar una de mis metas.

A ti Luis que me diste el impulso principal para tomar este camino.

Con todo mi amor y gratitud, para ustedes.

Jenny Patricia Camino Santiana

AGRADECIMIENTO

Gracias a la Universidad Técnica de Ambato, por abrirme sus puertas y darme la oportunidad de lograr una de mis principales metas académicas de mi vida.

A mi tutor de investigación Ing. Hernán Zurita por brindarme su apoyo y conocimiento en el desarrollo del trabajo presente.

Al Ing. Edwin Pallo por brindarme su ayuda y conocimientos en el laboratorio.

A Dayana, Estephany y David, mis amigos, por ser los mejores compañeros de estudio y aventura. Por estar ahí cuando más los necesité, ofreciéndome sus palabras de apoyo y las inevitables risas. En las circunstancias más difíciles, su amistad genuina me ayudo a avanzar y no rendirme. Sin su cariño y compañía este logro no hubiera sido posible. Gracias por ser parte de mi vida.

INDICE GENERAL

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN	iii
DERECHOS DEL AUTOR	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
INDICE GENERAL.....	vii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	viii
RESUMEN.....	x
SUMMARY	xi
CAPÍTULO I.....	12
INTRODUCCIÓN	12
1.1. Antecedentes investigativos.....	13
1.2. Hidrolatos.....	14
1.3. Canela (<i>Cinnamomum verum</i>)	15
1.4. Hierba luisa (<i>Cymbopogon citratus</i>).....	16
1.5. <i>Phytophthora infestans</i>	17
1.6. OBJETIVOS	21
CAPÍTULO II	22
METODOLOGÍA	22
2.1. Ubicación del experimento (ensayo)	22
2.2. Equipos y materiales.....	22
2.3. Factores en estudio.....	23
2.4. Diseño experimental	24
2.5. Manejo del experimento	24
2.6. Variable respuesta.....	25
2.7. Procesamiento de la información.....	26
CAPÍTULO III.....	27
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
3.1. Porcentaje de crecimiento micelial de <i>Phytophthora infestans</i>	27
3.2. Determinación del porcentaje de inhibición	29
3.3. Verificación de hipótesis	30
CAPITULO IV.....	31
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	31

4.1. CONCLUSIONES	31
4.2. RECOMENDACIONES.....	31
BIBLIOGRAFIA.....	32
ANEXOS.....	36

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación taxonómica de la canela	15
Tabla 2 Clasificación taxonómica de la hierba luisa.....	16
Tabla 3 Clasificación taxonómica de <i>Phytophthora infestans</i>	18
Tabla 4 Esquema de la distribución para la aplicación de los tratamientos en el ensayo.....	23

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1 Ciclo de vida de <i>Phytophthora infestans</i>	19
Ilustración 2 Análisis del porcentaje de crecimiento DÍA 3.....	27
Ilustración 3 Análisis del porcentaje de crecimiento DÍA 7.....	28
Ilustración 4 Análisis del porcentaje de crecimiento DÍA 9.....	28
Ilustración 5 Análisis de inhibición DÍA 3	29
Ilustración 6 Análisis de inhibición DÍA 7	29
Ilustración 7 Análisis de inhibición DÍA 9	30

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1 Muestra vegetal portador de <i>Phytophthora infestans</i>	36
ANEXO 2 <i>Phytophthora infestans</i> de la muestra vegetal observada al microscopio .	36
ANEXO 3 Multiplicación del hongo <i>phytophthora infestans</i> en cámara húmeda	36
ANEXO 4. Siembra para la multiplicación del patógeno en medio PDA.....	37
ANEXO 5 Crecimiento del hongo después de 10 días.....	37
ANEXO 6 Trazo de la cruz para la siembra y medición de crecimiento del hongo..	37
ANEXO 7 Siembra de discos del hongo en medio PDA con tratamiento.....	38
ANEXO 8 Crecimiento del hongo en medio envenenado con hidrolato (H) de canela (C) en tres concentraciones (C1, C2, C3) y con tres repeticiones (R1, R2, R3) cada una.	38

ANEXO 9 Crecimiento del hongo en medio envenenado con hidrolato (H) de hierba luisa (HL) en tres concentraciones (C1, C2, C3) y con tres repeticiones (R1, R2, R3) cada una.....	40
ANEXO 10 Crecimiento del hongo en medio envenenado con hidrolato (H) combinado de canela (C) y hierba luisa (HL) en tres concentraciones (C1, C2, C3) y con tres repeticiones (R1, R2, R3) cada una.	41
ANEXO 11 Crecimiento del hongo en un medio PDA sin tratamiento (Testigo)	43
ANEXO 12 Crecimiento miceliar a los 9 días con hidrolato de canela	44
ANEXO 13 Crecimiento miceliar a los 9 días con hidrolato de hierba luisa	45
ANEXO 14 Crecimiento miceliar a los 9 días con hidrolato de canela + hierba luisa.....	46
ANEXO 15	46
ANEXO 16 Tukey al 5% del porcentaje de crecimiento miceliar de <i>Phytophthora infestans</i>	48
ANEXO 17 ADEVA para el porcentaje de inhibición de <i>P. infestans</i> en los días 3,7 y 9.....	48
ANEXO 18 Porcentaje de inhibición de <i>Phytophthora infestans</i>	49

RESUMEN

Una de las enfermedades fitosanitarias que lo amenaza es el Tizón tardío provocado por el hongo *Phytophthora infestans* esto debido a la resistencia que va presentando con el pasar de los tiempos a los compuestos químicos y su uso indiscriminado, por ello se busca manejos alternativos para el control de este hongo. En este estudio, se evaluó *in vitro* el efecto antifúngico de los hidrolatos de *Cymbopogon citratus*, *Cinnamomum verum* y una combinación de ambos (en partes iguales) obtenidos por arrastre de vapor sobre *Phytophthora infestans* aislado de *Solanum Tuberosum*. Los resultados fueron determinados a los 3, 7 y 9 días. Se uso la técnica de medio envenenado, con tres concentraciones de cada uno (20%, 30% y 40%). Luego se determinó la concentración con mayor respuesta inhibitoria. La cuantificación del crecimiento micelial se utilizó para determinar el efecto regulador que causa el hidrolato. Los resultados mostraron que el hidrolato de canela (*Cymbopogon citratus*) con su tratamiento H1C3 mostró que al día 9 obtuvo el menor crecimiento micelial del hongo *P. infestans*. Se concluye así que el hidrolato de Canela a una concentración del 40% tienen un resultado muy favorable para inhibir el crecimiento de *P. infestans* con un 84,14% de efectividad, siendo este una buena alternativa para el control de *P. infestans* y además de ello precautelar la salud de la planta y el suelo.

Palabras claves: Hidrolatos, *Cymbopogon citratus*, *Cinnamomum verum*,

SUMMARY

One of the phytosanitary diseases that threatens it is late blight caused by the fungus *Phytophthora infestans*, due to the resistance to chemical compounds and their indiscriminate use, which is why alternative management methods are being sought to control this fungus. In this study, the antifungal effect of hydrolysates of *Cymbopogon citratus*, *Cinnamomum verum* and a combination of both (in equal parts) obtained by vapor entrainment on *Phytophthora infestans* isolated from *Solanum Tuberosum* was evaluated in vitro. Results were determined at 3, 7 and 9 days. The poisoned medium technique was used, with three concentrations of each (20%, 30% and 40%). The concentration with the highest inhibitory response was then determined. The quantification of mycelial growth was used to determine the regulatory effect caused by the hydrolate. The results showed that cinnamon (*Cymbopogon citratus*) hydrolate with its H1C3 treatment showed the lowest mycelial growth of *P. infestans* fungus at day 9. It is concluded that Cinnamon hydrolate at a concentration of 40% has a very favorable result to inhibit the growth of *P. infestans* with 84.14% effectiveness, being a good alternative for the control of *P. infestans* and also to protect the health of the plant and the soil.

Key words: Hydrolates, *Cymbopogon citratus*, *Cinnamomum verum*,

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Los mayores obstáculos para la producción agrícola son los problemas fitosanitarios o enfermedades que afectan a las plantas, lo que reduce la calidad final del producto y el rendimiento. La rentabilidad final del cultivo puede verse afectada por daños totales o parciales. La calidad de las semillas sembradas y las condiciones ambientales pueden ser factores que aporten al desarrollo de algunas de las enfermedades más problemáticas para los cultivos (**Méndez y Gaete, 2021**).

Pérez y Forbes (2008) mencionan que *Phytophthora infestans* es una de las más dañinas enfermedades que afectan a las solanáceas y otras familias vegetales en todo el mundo. Sus síntomas se presentan como lesiones necróticas en las hojas y tallos, lo que provoca la muerte de los tejidos, debido a los esporangios presentes en las hojas y tallos. El hongo *Phytophthora infestans* puede sobrevivir en forma de micelio en tubérculos, plantas voluntarias o semillas para infectar el cultivo más tarde.

Según García et al. (2017), como resultado de estas pérdidas, se han implementado un control químico excesivo sin considerar los efectos residuales que contaminan el agua, el suelo, las plantas, los animales y por ende perjudica la salud humana. **Carreño et al. (2007)** sugieren mecanismos de control biológico ya que se ha visto el excesivo uso de fungicidas, por lo que se buscan nuevas opciones ecológicas a través del control botánico, el cual implica el uso de extractos o subproductos vegetales ya que estos ayudan a la intervención en el desarrollo de los hongos, lo cual favorece a la reducción de la severidad de la enfermedad. Hasta la aparición de los plaguicidas sintéticos, el uso de extractos vegetales para el control de plagas agrícolas era una práctica extendida en muchas culturas y regiones del planeta (**Molina, 2001**).

Los hidrolatos, también conocidos como aguas florales o aguas destiladas, son productos de destilación de plantas aromáticas, flores, hierbas u otros materiales vegetales. Estos productos se obtienen a través de un proceso de destilación al vapor o extracción por arrastre de vapor, en el que el agua se calienta y se pasa a través de la

materia vegetal, permitiendo la liberación de los componentes aromáticos y beneficiosos de la planta (**Nucleosys. S.f.**).

Según Álvarez (2013), los hidrolatos contienen trazas de aceites esenciales y otros compuestos solubles en agua de la planta. Los compuestos aromáticos, los fitonutrientes y los minerales son algunos de estos elementos. Es importante tener en cuenta que los hidrolatos son menos concentrados que los aceites esenciales, por lo que suelen tener un aroma y propiedades más suaves.

En este trabajo, se estudió *in vitro* el efecto antifúngico de los hidrolatos de *Cymbopogon citratus*, *Cinnamomum verum* y una combinación de ambos (en partes iguales) obtenidos por arrastre de vapor sobre *Phytophthora infestans* aislado de *Solanum tuberosum*. Se usó la técnica de medio envenenado, con tres concentraciones de cada uno (20%, 30% y 40%) con el propósito de producir alternativas menos contaminantes para el manejo de este patógeno.

1.1. Antecedentes investigativos

Antes de que el hombre participara activamente en su protección, las plantas podían defenderse de las plagas. Se sabe que producen una amplia gama de metabolitos secundarios relacionados con mecanismos de defensa. Dependiendo de su polaridad, se pueden obtener diferentes compuestos a partir de extractos de plantas utilizando diferentes métodos, como extractos acuosos, polvos u otros disolventes. Numerosos productos de origen vegetal han demostrado un efecto antimicrobiano. Estas sustancias son flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lectinas, saponinas y polipéptidos, que destacan entre otras (**Hernández et al, 2007**).

Fue determinado por **Solarte y Osorio (2014)** que el contenido final de sapogeninas (hecogenina o tigogenina) componentes que habían sido reportados como potenciales inhibidores de hongos patógenos, y específicamente de *Phytophthora infestans*, en el artículo titulado “Evaluación de la concentración de fiqué jugo (*Furcraea* spp) para el control *in vitro* de *Phytophthora infestans* en plantas de papa (*Solanum tuberosum*)”. *infestans*, los cuales fueron cultivados en cajas de Petri mediante diversos tratamientos y utilizando discos de micelio del patógeno con un diámetro de 1,2 cm. La temperatura

y la duración son dos elementos que inciden directamente en la concentración del jugo de fique. Se realizó un análisis de varianza de los datos para la evaluación y se descubrió que el tratamiento C1 (90°C durante 120 min) es la mejor combinación para lograr un nivel de inhibición de patógenos del 100 por ciento. De estos resultados concluyeron que debido a que el jugo de fique tiene propiedades antifúngicas, se convierte en un muy buen sustituto para tratar la gota de papa causada por el hongo *Phytophthora infestans*.

1.2.Hidrolatos

Los hidrolatos, también conocidos como aguas florales o aguas destiladas, son productos derivados de la destilación de plantas aromáticas, flores, hierbas u otros materiales vegetales. Estos productos se obtienen mediante un proceso de destilación al vapor o extracción por arrastre de vapor, en el cual se calienta agua y se pasa a través de la materia vegetal, lo que permite la liberación de los componentes aromáticos y beneficiosos de la planta (**Nucleosys. S.f.**).

Álvarez, (2013) afirma que los hidrolatos contienen trazas de aceites esenciales, así como otros compuestos solubles en agua que provienen de la planta. Estos compuestos incluyen compuestos aromáticos, fitonutrientes, minerales. Es importante destacar que los hidrolatos son menos concentrados que los aceites esenciales, por lo que su aroma y sus propiedades suelen ser más suaves.

1.2.1. Uso de principios activos de hidrolatos

Son subproductos de la síntesis orgánica y, cuando ingresan a una planta, activan la fitoalexinas, que son los mecanismos de defensa integrados en la planta. **Hualcapi (2012)** afirma, además, que el efecto de los extractos vegetales sobre las enfermedades se produce por el fortalecimiento estructural de la planta, aumentando su resistencia a la penetración de micelios fúngicos y picaduras de hongos, en lugar de ser causado por algún tipo de toxicidad directa.

1.3.Canela (*Cinnamomum verum*)

1.3.1. Taxonomía

Según Velastegui (2011) su taxonomía es:

Tabla 1

Clasificación taxonómica de la canela

Taxon	Nombre
Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Lurales
Familia:	Lauraceae
Género:	<i>Cinnamomum</i>
Especie:	<i>C. verum</i>

1.3.2. Descripción botánica

La canela es un árbol perenne de entre 8 a 15 metros de altura, aunque cuando se trasplanta suele ser más pequeño y adoptar la forma de un arbusto. Su corteza es la parte más importante, es de color marrón grisáceo y tiene un ciclo vital perenne. Su tronco tiene consistencia de madera. Las hojas son ovaladas y puntiagudas, de color verde brillante en el haz, tienen cinco nervios rojos, uno en el medio y otro en el dorso, en forma de arco, convergiendo en la base, y otro conjunto de nervios forma un ángulo en el envés. El pecíolo de la hoja mide entre 10 y 20 mm, es fuerte y de forma cóncava. Sus flores son hermafroditas (contienen estambres y pistilos en una misma flor), de color blanco o amarillo verdoso y cubiertas de pelos, brácteas y actinomorfas. El perianto es indiferenciado, formado por seis sépalos libres. Las flores miden alrededor de 0,5 cm de largo, se encuentran agrupadas en panículas que crecen en las axilas de las hojas o incluso en las puntas y alcanzan una longitud similar a la longitud de las hojas. El fruto es una baya larga, elíptica, de unos 12,5 cm de altura, muy oscura, de color azul oscuro, con una semilla en su interior. Se reproduce a partir de semillas contenidas en las bayas y también por propagación vegetativa (INECOL, 2018).

1.3.3. Propiedades de la Canela (*Cinnamomum verum*)

La canela tiene un aroma característico, este se debe a los aceites esenciales aromáticos que constituyen del 0,5 al 2,5% de su composición. El ingrediente principal es el aldehído cinámico, así como el eugenol y el alcohol cinámico. En menores proporciones encontramos aldehído hidroxicinámico, aldehído o-metoxicinámico, acetato cinámico, terpenos (linalol, diterpeno), taninos, mucílagos, oligómeros y polímeros de proantocianidinas y carbohidratos (**Hurtado, 2015**).

Los hidrolatos de canela están constituidos mayoritariamente por derivados fenilpropánicos como E-cinamaldehído, eugenol, acetato de cinamilo y componentes monoterpénicos como linalol, cineol y sesquiterpénicos como beta-cariofileno. La canela es una planta aromática con poderosas propiedades antisépticas, antiinfecciosas, antifúngicas y antibacterianas que pueden matar el 98 por ciento de los microorganismos patógenos presentes en otras plantas, animales y hasta humanos. El aceite de corteza de canela y sus extractos tienen propiedades antifúngicas, antibacterianas y antivirales (**Lagos, 2018**).

1.4. Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*)

1.4.1. Taxonomía

Tabla 2

Clasificación taxonómica de la hierba luisa

Taxon	Nombre
Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Liliopsida
Orden:	Poales
Familia:	Poaceae
Género:	<i>Cymbopogon</i>
Especie:	<i>Cymbopogon citratus</i>

Fuente: (**Leyva et al., 2011**)

1.4.2. Descripción botánica

La hierba luisa es una planta herbácea, perenne erecta, aromática y miembro de la familia de las gramíneas que se propaga mediante esquejes. Su inflorescencia se encuentra en forma de racimos con segmentos vellosos de hasta 60 cm de largo; las espiguillas son sésiles, de forma lineal-lanceoladas y planas en el dorso. Las hojas, que emergen del suelo formando densos macollos, son alargadas como cintas y de color verde claro. Tienen un aroma fuerte (Leyva et al., 2011).

1.4.3. Propiedades de la hierba luisa (*Cymbopogon citratus*)

El hidrolato de *C. citratus* es abundante en metabolitos secundarios y contiene un 46,15 % de familias de compuestos, que incluyen cumarinas, metilencetonas, esteroides insaturados, triterpenos, fenilpropanoides y catequinas. Los principales principios activos de su extracto son: el geraniol y el citronelol, estos compuestos tienen efecto antiséptico y le confieren propiedades fungistáticas e incluso bactericidas (Vélez, 2018).

En el artículo de **Enríquez (2023)** titulado “Bioactivos de la hierba luisa utilizados en la industria” logró identificar la aplicación de mircenol, citronelol, geraniol y neral en el área agrícola. Haciendo que estos componentes de hierba luisa funcionen como:

Repelente de insectos: El extracto de hierba luisa contiene citral, mircenol, citronelol y geraniol para ahuyentar insectos como mosquitos y pulgones.

Fungicida: El componente citral, que previene la germinación del hongo y el crecimiento de su micelio, es la fuente del alto poder fungicida.

Herbicida: El citral, el componente principal del herbicida, se utiliza para controlar las malas hierbas.

1.5. *Phytophthora infestans*

Phytophthora infestans es un hongo oomiceto conocido por ser el causante de la enfermedad llamada tizón tardío o mildiú. Para este hongo las principales plantas hospedadoras son: la papa (*Solanum tuberosum* L.), el tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) y muchas otras especies de pertenecientes a la familia de las solanáceas, además

de otras familias de especies vegetales (**Andrango, 2017**). La enfermedad se transmite principalmente a través de plantas voluntarias, tubérculos, semillas, desechos de papa y otros huéspedes susceptibles donde *P. infestans* puede sobrevivir en tejido vivo (**Cardona et al, 2016**).

1.5.1. Taxonomía

Tabla 3

Clasificación taxonómica de Phytophthora infestans.

TAXON	NOMBRE
Reino:	Pseudofungi
Phylum:	Oomycota
Clase:	Oomycete
Orden:	Pythiales
Familia:	Pythiaceae
Genero:	<i>Phytophthora</i>
Especie:	<i>infestans</i>
Nombre científico	<i>Phytophthora infestans</i>

Fuente: (**Realpe, 2010**)

1.5.2. Ciclo de vida

El hongo *P. infestans* invade y se reproduce en las partes aéreas de la planta huésped. Es ectópico y se caracteriza por la diferenciación de micelios vegetativos para formar esporangios (estructuras que contienen esporas) y esporas asexuales (zoosporas). Además, existen dos tipos de apareamiento en la reproducción sexual: A1 y A2 (**Yépez, 2016**).

1.5.2.1 Reproducción sexual

Realpe (2010) afirma que la reproducción sexual requiere dos tipos de apareamiento. Uno actúa como gameto femenino (A1) y el otro actúa como gameto masculino (A2), dando lugar a la formación de oosporas, estructuras que facilitan la reproducción cuando los patógenos viven en condiciones desfavorables, permanecen inactivos

durante mucho tiempo, tienen genotipos resistentes y muy agresivos. Cada tipo de apareamiento es hermafrodita y puede producir oogonios y anteridios mediante diferenciación del micelio vegetativo. Ambos tipos de cruces se consideran grupos sin compatibilidad sexual. Esto se debe a que un tipo de anteridio u oogonio puede cruzarse con un tipo opuesto de oogonio o anteridio.

1.5.2.2 Reproducción asexual

Los patógenos asexuales prefieren ambientes fríos o húmedos. La temperatura óptima para la esporulación (formación de esporas) es de 12-18°C, en ambientes con saturación de agua o próximos a saturarse (Agrios, 2004). La producción de zoosporas es favorable a temperaturas inferiores a 15°C. Las zoosporas se depositan sobre superficies duras dándoles forma redonda y formando una pared celular, cuando están húmedas desarrollan tubos germinales y entran a la hoja a través de los estomas, donde las hifas penetran directamente a través de la cutícula. La temperatura más adecuada para el crecimiento de las lesiones es de 20-24 ° C. El ciclo de vida asexual de *P. infestans* puede completarse en menos de 4 días en condiciones ambientales favorables. Sin embargo, es posible que los síntomas no aparezcan hasta 3 o 4 días después de la infección inicial (Pérez & Forbes, 2008).

En la figura 1 de INTAGRI (2018) se observa estos dos tipos de reproducción de *P. infestans* en una planta de papa (*Solanum tuberosum*).

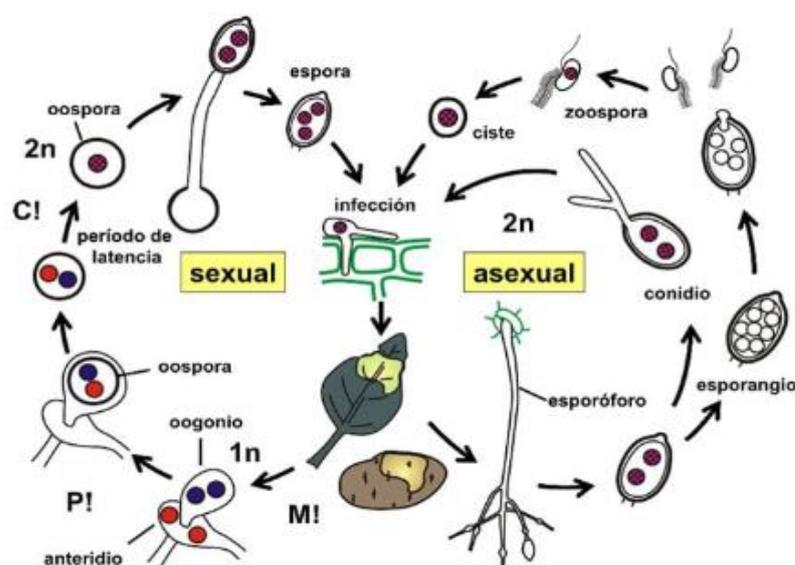


Ilustración 1 Ciclo de vida de *Phytophthora infestans*

1.5.3. Micelio

Los filamentos cenocíticos "hialinos" (hifas) que forman las estructuras somáticas (talos) están ramificados. El micelio rara vez crece simétricamente y, a veces, se esponja, se retuerce o se tubercula (**Echemendia, 2012**).

Andrango (2017) asegura que, en ausencia de un huésped, el micelio puede sobrevivir saprofitamente en partículas de materia orgánica del suelo. Cuando las especies de *Phytophthora* se cultivan *in vitro*, una serie de variables, incluida la composición del medio, la temperatura, los nutrientes, la tensión de oxígeno, CO₂, el pH y, en menor medida, la luz, afectan el desarrollo del micelio. Estas especies se pueden cultivar *in vitro* a niveles de pH entre 3 y 10, siendo un rango entre 4 y 5 el punto óptimo para que la mayoría de las especies crezcan hasta su máximo potencial. Los niveles de pH que promueven el mejor desarrollo del micelio también suelen favorecer la producción de esporangios, clamidosporas y oosporas (**Echemendia, 2012**).

1.5.4. Epidemiología

Acuña (2007) asegura que la infección se desarrolla durante al menos 12 horas antes de que aparezcan los primeros síntomas, los que puede tardar entre 5 y 7 días en acabar con la vida de la planta.

Infecta los diversos órganos de la planta, incluidas sus raíces, tubérculos, tallos, hojas, flores y frutos (**Agrios, 2004**). Una vez enferma la planta las hojas y el tallo exhiben las lesiones necróticas más graves, debido a que los tejidos se destruyen durante la fase de infección foliar, hay una reducción en la capacidad fotosintética, lo que reduce el rendimiento de la producción (**Realpe, 2010**).

Phytophthora infestans generalmente se comporta como una enfermedad policíclica en el campo, provocando una curva de progreso cuya forma varía dependiendo de las condiciones climáticas, pudiendo convertirse en epidemia en ciertos rangos de temperatura (**Ortiz & Ferrera, 2004**).

Alor (2015) menciona que, dependiendo de la estación, este patógeno puede sobrevivir como micelio o esporas (esporangios u oosporas). Los residuos de plantas o

tubérculos-semillas suelen ser las primeras fuentes de inóculo. Si se ha producido reproducción sexual, las esporas del suelo serían la causa de la infección. Cuando una planta se infecta asexualmente, los esporangios de sus hojas y tallos pueden propagarse por el viento y la lluvia, infectando a huéspedes cercanos o a tubérculos ya infectados en el suelo. Además afirma que la enfermedad también puede propagarse durante el período vegetativo al lavar los esporangios en el suelo y entrar en contacto con las partes aéreas de las plantas infectadas, o puede surgir de los tubérculos o semillas infectados durante el período posterior a la cosecha.

1.6. OBJETIVOS

1.6.1. Objetivo General

- Evaluar el efecto de hidrolatos de *Cymbopogon citratus* y *Cinnamomum verum* en el control *in vitro* de *Phytophthora infestans*.

1.6.2. Objetivos Específicos

- Determinar el hidrolato que inhibe el crecimiento de *Phytophthora infestans* *in vitro*.
- Establecer la concentración adecuada de los hidrolatos para inhibir el crecimiento de *Phytophthora infestans*.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1.Ubicación del experimento (ensayo)

El estudio se realizará en los laboratorios de Sanidad Vegetal y Bio-insumos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato en el cantón Cevallos, provincia de Tungurahua.

2.2.Equipos y materiales

2.2.1. Equipos

- Autoclave
- Cámara de flujo laminar

2.2.2. Materiales

- Agar Papa Dextrosa
- Agua destilada
- Antibióticos (penicilina)
- Cajas Petri plásticas
- Frascos autoclavables de rosca (100, 500ml)
- Lámpara de alcohol
- Matraz (300 ml)
- Papel aluminio
- Papel film
- Pinza
- Probetas
- Puntas de plástico
- Puntas para sembrar microorganismos

2.2.3. Materiales de oficina

- Regla
- Rotulador
- Cuaderno
- Esferográfico

2.3. Factores en estudio

Los factores de estudio que esta investigación se va a tomar en cuenta son los siguientes:

2.3.1. Hidrolatos

Canela	H1
Hierba Luisa	H2
Canela + Hierba Luisa	H3

2.3.2. Concentraciones

TESTIGO

20 %	C1
30%	C2
40%	C3

2.3.3. Tratamientos

Tabla 4

Esquema de la distribución para la aplicación de los tratamientos en el ensayo

Nº	Símbolo	Hidrolato	Concentración
1	H1C1	Canela	20%
2	H1C2	Canela	30%
3	H1C3	Canela	40%
4	H2C1	Hierba Luisa	20%
5	H2C2	Hierba Luisa	30%
6	H2C3	Hierba Luisa	40%
8	H3C1	10% Canela + 10% Hierba Luisa	20%
9	H3C2	15% Canela + 15% Hierba Luisa	30%
10	H3C3	20% Canela + 20% Hierba Luisa	40%
11	TESTIGO		

2.4. Diseño experimental

Se utilizará un diseño experimental Completamente al azar en arreglo factorial 3x3+1 con tres repeticiones.

2.5. Manejo del experimento

2.5.1. Obtención de hidrolatos.

Para dar cumplimiento al objetivo se llevó a cabo la extracción de los hidrolatos de canela y hierba luisa. Se seleccionó las ramas a utilizar, eliminando tierra que pudiera estar adherida. Se peso una muestra de 10 kg de hierba luisa en una balanza analítica ADAM y se redujo su tamaño para aumentar la superficie de contacto. Se coloco en un balón de tres bocas de 1000 ml que estaba conectado al equipo de destilación por arrastre de vapor, conformado a su vez por un balón generador de vapor de 1000 ml, un matraz de 250 ml, dos placas calefactoras digitales, un termómetro de vidrio, un condensador, conexiones de vidrio y goma. En un matraz se pesó 100 g de muestra seca (canela) y molida (hierba luisa) de las dos plantas al que se añadió 300 ml de etanol al 50% Se deajo macerar por 48 horas, posterior a esto se concentró y se preparó las soluciones en diferentes concentraciones (**Ramírez, et al. 2016**).

2.5.2. Obtención de *Phytophthora infestans*

Las muestras de *P. infestans* se obtuvieron de un cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) variedad super chola. Se tomaron muestras de hojas que presentaban síntomas como lo describe **Pineda et al. (2020)**: manchas de forma irregular, de color marrón oscuro claro, parecen húmedas y, a veces, están rodeadas de amarillo. Los síntomas aparecen primero en los bordes y puntas de las hojas y, cuando están mojadas, aparecen manchas blancas en el envés de las hojas. Las lesiones se expanden rápidamente y adquieren un color marrón oscuro, provocando necrosis y muerte del tejido afectado. Las plantas infectadas emiten un olor característico debido a la rápida destrucción del tejido foliar.

2.5.3. Reproducción de los hongos fitopatógenos

Primero se realizaron cámaras húmedas con las muestras vegetales infectadas para que el hongo se desarrolle y con esto obtener muestras para su multiplicación en el medio *in vitro*. Para el cultivo de *Phytophthora infestans* se preparó el medio en un matraz con

150 ml de agua destilada y 10 g de agar, se colocó en la autoclave por 30 minutos, luego se lo dejó enfriar por 5 minutos. Para evitar contaminación del medio de cultivo, se aplicó antibióticos, 100 µL de Ampicilina en los 150 ml del medio. En la cámara de flujo laminar, se dispuso el medio en 5 cajas Petri de 20 ml y se dejó reposar por una hora hasta conseguir la consistencia gelatinosa y se procede a sembrar las cepas del hongo *Phytophthora infestans*, esto con la ayuda de una punta. Los medios con los hongos serán conservados a 22° C por 7 días (Manobanda, 2019).

2.5.4. Siembra de hongos fitopatógenos

Se preparó un medio de agar papa dextrosa (PDA) y se colocó en la autoclave a 121 ° C y se enfrió a 45 ° C. Posteriormente, se añadió cantidades apropiadas de cada hidrolato al medio PDA para obtener concentraciones del 20%, 30 % y 40% (p / v) de los hidrolatos en el medio. Los hidrolatos se mezclaron completamente con el medio. Se vertió 20 ml de cada medio en cada una de las placas de Petri esterilizadas de 90 mm de diámetro y se dejaron solidificar durante una noche. Posteriormente con una punta plástica, se realizó una perforación en el centro del medio para ser rellenada con el hongo patógeno (*Phytophthora infestans*) de acuerdo a los tratamientos establecidos. Utilizando un punzón con punta esterilizada, se extraerán discos de micelio de 8 mm de diámetro de cultivos de *Phytophthora infestans* de 9 días y se colocarán en el medio de cada placa Petri. En la base de la placa, la ubicación del disco se marcará con un rotulador y también se marcarán dos ejes ortogonales que pasan por el centro del disco para usarlos como estándares al registrar el crecimiento. Las placas se incubarán a 22°C durante 10 días (Manobanda, 2019).

2.6.Variable respuesta

2.6.1. Porcentaje de Crecimiento del hongo en el medio de cultivo

Usando una regla, se midió el crecimiento a lo largo de la línea marcada en la parte posterior de la caja Petri y se registró la medida en milímetros cada 24 horas. Cada tratamiento será replicado tres veces. Los resultados serán definidos a los días 3,7 y 9. Para determinar el porcentaje de crecimiento de la cepa, se utilizó la fórmula de Ramírez y Díaz (2007):

$$\% \text{ de crecimiento} = \frac{(\text{Diámetro del crecimiento del hongo extracto})}{(\text{Diámetro del control negativo})} * 100$$

2.6.2. Determinación del porcentaje de inhibición

Los resultados serán definidos a los días 7 y 9. Para la determinación del porcentaje de inhibición de *Phytophthora infestans*, se utilizó la fórmula de **Arce-Araya et al. (2019)**:

$$\% \text{ de inhibición} = 100 - \% \text{ de crecimiento}$$

2.7. Procesamiento de la información

Para el análisis y cálculo de los datos obtenidos del crecimiento del hongo en el medio de cultivo, se realizó el registro en Excel 2019. Todos los análisis se realizaron en el programa InfoStat para luego ser procesada dicha información, en el análisis ADEVA y Tukey al 0.05%.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Porcentaje de crecimiento micelial de *Phytophthora infestans*

Finalizada la toma de datos, se aplicó la fórmula para determinar el porcentaje de crecimiento, estos resultados fueron ingresados en el ADEVA en donde se muestra que los datos tienen diferencia significativa entre tratamientos y se realizó la prueba de Tukey al 5%.

En la ilustración 2 se presenta el análisis del crecimiento que obtuvo *P. infestans* en el día 3 en donde dos de los tratamientos con hidrolato de canela (*Cinnamomum verum*) (H1C2 y H1C3) presentaron un crecimiento mínimo, menor al 15% destacando el tratamiento H1C3 el cual presentó el 0% de crecimiento; los tratamientos con hidrolato de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) mostraron un crecimiento muy alto para los primeros 3 días, mientras que los tratamientos H3C2 Y H3C3 de hidrolatos combinados (Canela + hierba luisa) mostraron un crecimiento menor al 40%.

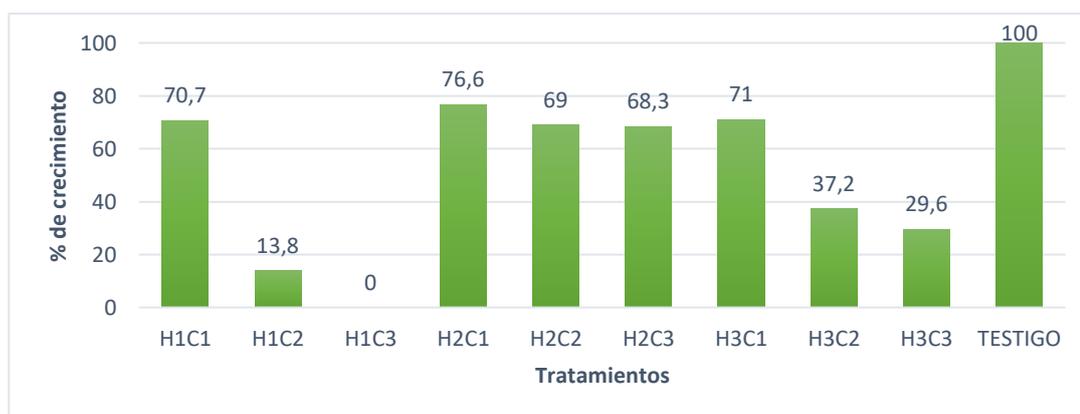


Ilustración 2 Análisis del porcentaje de crecimiento DÍA 3

En la ilustración 3 se muestra el crecimiento del hongo en el día 7, en donde se muestra que el tratamiento con hidrolato de canela H1C3 presentan ya el 8,57%, a pesar de esto sigue siendo el tratamiento con menor crecimiento, por otro lado, el tratamiento con hidrolato de hierba luisa H2C1 presenta el 87,1% de crecimiento siendo este el mayor porcentaje.

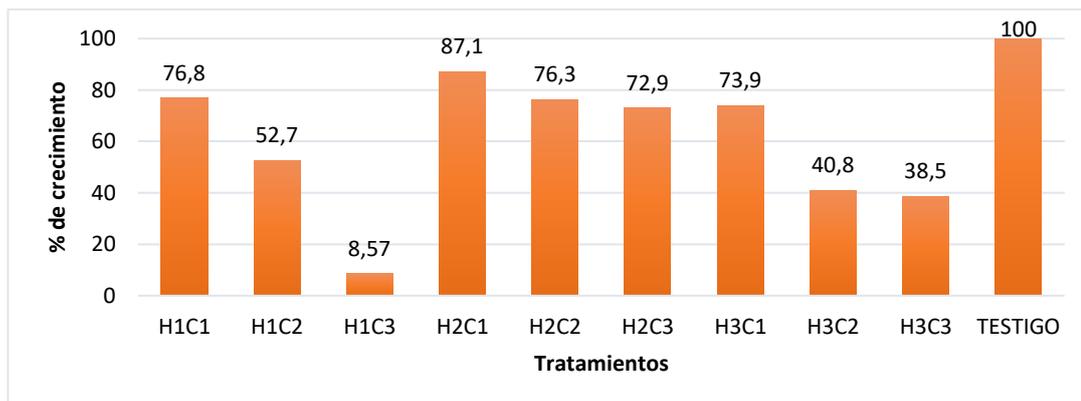


Ilustración 3 Análisis del porcentaje de crecimiento DÍA 7

En la ilustración 4 tenemos los resultados del crecimiento de *P. infestans* del día 9, en donde, el tratamiento con hidrolato de canela H1C3 obtuvo un crecimiento final del 15,9% siendo así el mejor tratamiento, por otra parte, en tratamiento con el hidrolato de hierba luisa H2C1 creció el 89,7% lo que indica que este es el peor tratamiento para el manejo de *P. infestans*. Cabe mencionar también que los tratamientos con hidrolatos combinados de canela + hierba luisa H3C2 Y H3C3 presentaron un crecimiento lento y a la par llegando a porcentajes menores al 50%.

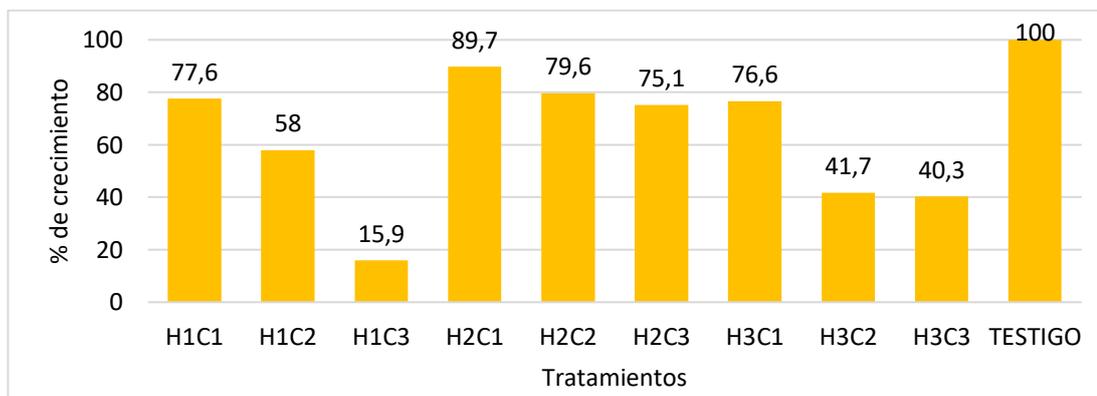


Ilustración 4 Análisis del porcentaje de crecimiento DÍA 9

El efecto del hidrolato de canela en el crecimiento de *P. infestans* se debe a la presencia de componentes terpénicos como el cineol, el cual causa toxicidad a los hongos y es capaz de detener el crecimiento. Lo que concuerda con **Morcía et al, (2012)** que en su investigación titulada “Actividad antifúngica in vitro de terpinen-4-ol, eugenol, carvona, 1,8-cineol (eucaliptol) y timol contra patógenos vegetales micotoxigénicos” descubrió que el cineol y varios otros terpenos presentes en varias plantas mostraban efectos tóxicos contra múltiples variedades fúngicas, como *el Fusarium subglutinans*, *el Fusarium cerealis*, *el Aspergillus tubingensis*, *la Alternaria alternata* y *el Penicillium sp.*

3.2.Determinación del porcentaje de inhibición

En la ilustración 5 se muestra el porcentaje de inhibición de *P. infestans* del día 3 en donde los tratamientos con mejor resultado son los del hidrolato de canela: H1C3 con el 100% seguido de H1C2 el cual tiene un 86,18% de inhibición, mientras que los tratamientos con hidrolato de hierba luisa (H2C1, H2C2, Y H2C3) presentan un porcentaje por debajo del 30% y por otra parte los tratamientos con hidrolato combinado (canela + hierba luisa) presentan también un porcentaje medianamente alto en cuanto a la inhibición.

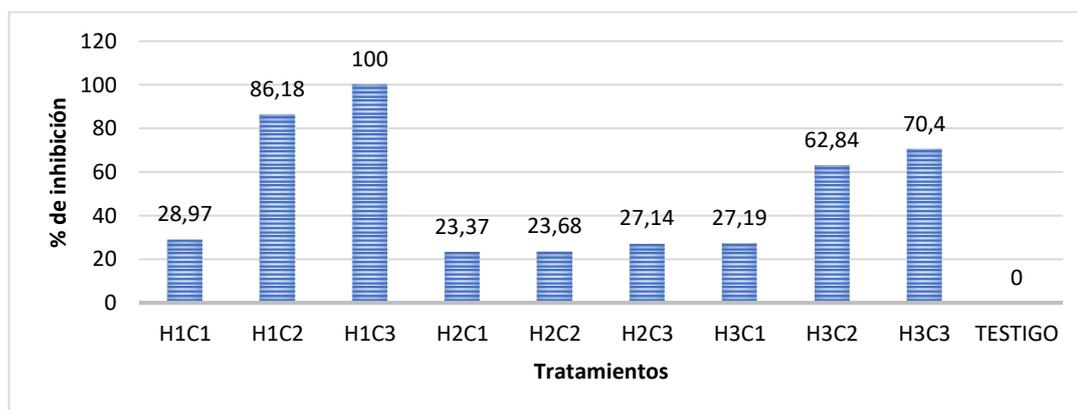


Ilustración 5 Análisis de inhibición DÍA 3

Para el día 7 en la ilustración 6 se muestra que el tratamiento H1C3 de hidrolato de canela presenta un porcentaje muy alto con el 91,43% el cual muestra que sigue manteniendo su efecto inhibitorio, mientras que los tratamientos de hierba luisa siguen manteniéndose bajo el 30%. Por otro lado, los tratamientos con hidrolato combinado H3C2 y H3C3 también se han mantenido con un porcentaje de 60,49 y 62,92% respectivamente siendo así parte de los tratamientos con mejor inhibición.

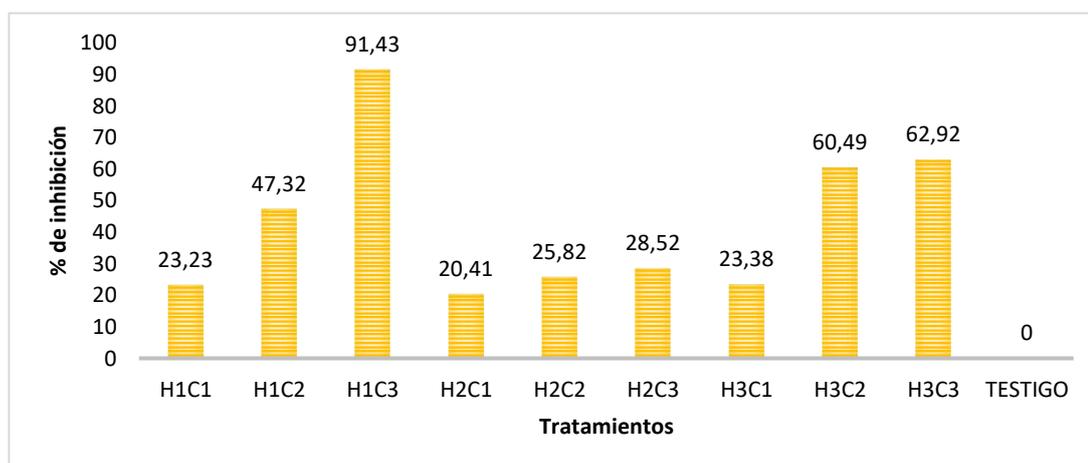


Ilustración 6 Análisis de inhibición DÍA 7

Como resultado final para el día 9 en la ilustración 7 se observa que el tratamiento H1C3 a pesar de haber bajado un poco su porcentaje en relación a los días pasados se mantuvo como el mejor tratamiento ya que al finalizar el trabajo presentó el 84,14% de inhibición, por otro lado, los tratamientos del hidrolato de hierba luisa mantuvieron su porcentaje de inhibición bajo lo que nos confirma que este hidrolato no es una buena alternativa para el control de *P. infestans*. En cuanto al hidrolato combinado podemos decir que tampoco resulta ser una buena opción ya que, si bien se ha mantenido por encima del 50% ha permitido que el hongo siga creciendo.

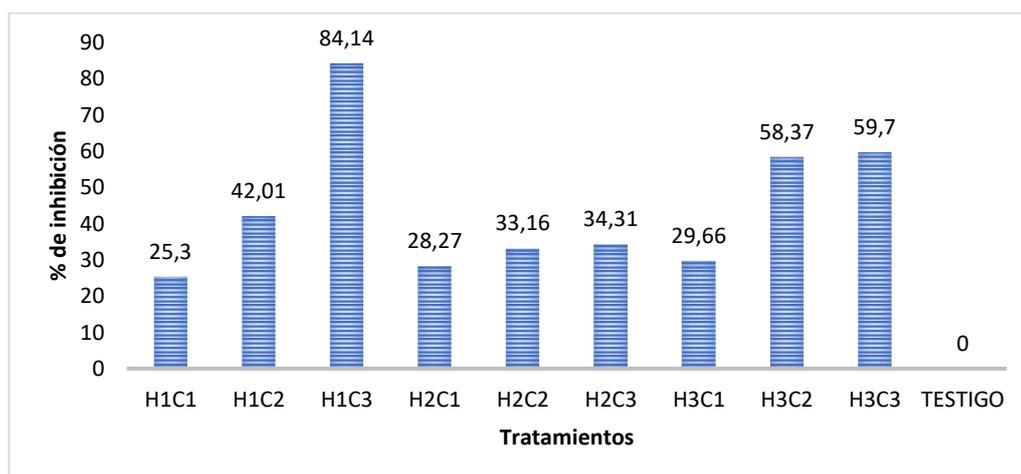


Ilustración 7 Análisis de inhibición DÍA 9

Los resultados obtenidos con el tratamiento H1C3 del hidrolato de canela, se debe a que la canela contiene efectos antifúngicos que pueden llegar a inhibir el crecimiento de hongos o patógenos, a demás de ello al utilizarse en una concentración del 40% mantuvo su eficiencia por más días que las otras concentraciones mas bajas, esto hace que concuerde con **Manobanda (2019)**, obtuvo un resultado similar, al probar tres extractos vegetales de Cabuya Blanca, Cabuya negra y Ashpa Quinoa en diferentes concentraciones (0,5%, 1%, 2% y 4%) en un medio envenenado y un testigo (0%), siendo así que, los mejores resultados lo dieron los extractos vegetales en las concentraciones de 2%, 4% y 1% respectivamente mostraron un crecimiento micelial muy leve.

3.3.Verificación de hipótesis

A través del presente trabajo realizado se acepta la hipótesis alterna, la cual menciona que al menos un hidrolato inhibirá el crecimiento de *Phytophthora infestans in vitro*, rechazando totalmente así, la hipótesis nula.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

- Con los resultados obtenidos en el presente trabajo se determinó que el hidrolato que presenta mayor inhibición de crecimiento de *P. infestans* es el hidrolato de canela (*Cinnamomum verum*).
- La concentración de hidrolato que mayor inhibición de *P. infestans in vitro*, presentó fue la concentración del 40%.

4.2. RECOMENDACIONES

- Al obtener un buen resultado de inhibición con hidrolato de canela en una concentración de 40% en *P. infestans* es recomendable que se pruebe a nivel de campo en el cultivo de papa.
- Se recomienda también que se pruebe en otras especies del mismo hongo como *P. fragariae* que afecta al cultivo de fresa.
- Probar la concentración del hidrolato de canela en diferentes variedades de papa (*Solanum tuberosum*).

BIBLIOGRAFIA

- Agrios, G. (2004). *Fitopatología*, Editorial Limusa S.A. México, España, Venezuela y Colombia, pp. 317 – 323.
- Alor, A. (2015). *Caracterización de Phytophthora infestans y mejora genética para la resistencia en patata*. [Tesis Doctoral, Universitat de Lleida Escola Técnica Superior d'Enginyeria Agrària]. Tdx
<https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/286188>
- Álvarez, H. (2013). *Elementos usados en la agricultura orgánica. El Colibrí*.
<https://cultivodeplatano.com/2013/10/21/elementos-en-la-agricultura-organica>
- Andrango, A. (2017). *Uso de extractos de Penco azul (Agave americana) y hongos de sombrero (Estrobilurus tenacellus) como preventivos del tizón tardío (Phytophthora infestans) en el cultivo de papa (Solanum tuberosum) variedad Chaucha amarilla*. [Tesis de grado, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio. <http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/26385/1/Tesis>
- Arce-Araya, C., Varela-Benavides, I., Torres-Portuguez, S., (2019) *Inhibición del crecimiento de antracnosis en ñame*. Agron. Mesoam. 30(2):381-393, mayo-agosto, 2019 ISSN 2215-3608 doi:10.15517/am. v30i2.32653
- Basantes, F., Aragón Suárez, J. P., Albuja Illescas, L. M., y Vásquez Hernández, L. Del R. (2020). *Diagnóstico de la situación actual de la producción y comercialización de la papa (Solanum tuberosum L.) En la Zona 1 del Ecuador*. E-Agronegocios, 6(2), 103–120.
<https://doi.org/10.18845/ea.v6i2.5103>
- Duarte, C. y Tomalá, C. (2022). *Valoración de la actividad antifúngica in vitro de dos aceites esenciales para la inhibición del crecimiento de lasiodiplodia theobromae patógeno de banano y cacao post cosecha*. [Tesis, Escuela Superior Politécnica del Litoral]. Repositorio.
- Echemendia, Y. (2012). *Phytophthora: Características, diagnóstico y daños que provoca en algunos cultivos tropicales. Medidas de control*.
<http://www.fao.org/docs/eims/upload/cuba/1060/cuf0022s>.
- Enríquez-Estrella, Miguel Ángel, Poveda-Díaz, Sonia Elizabeth, & Alvarado-Huatatoca, Glenda Indira. (2023). *Bioactivos de la hierba luisa utilizados en la*

- industria. Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 14(1), 1-11. E-pub
<https://doi.org/10.29312/remexca.v14i1.3249>
- Escalante Ortiz, M. y Farrera Pino, P. (2004). Epidemiología del tizón tardío (*Phytophthora infestans*) de la papa en zonas productoras del estado Táchira Venezuela. *Bioagro*, 16(1),47-54.
http://ve.scielo.org/scielo.php?Script=sci_arttext&pid=S1316-33612004000100007&lng=es&tlng=es.
- Hernández, A., Bautista, S., & Velázquez, M. (2007). *Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas*. Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal, *Redalyc*, 30(2): 119-123.
- Hualcapi, F. (2012). “*Combate de tizón tardío (Phytophthora infestans) con activadores de defensas naturales en el cultivo de papa (solanum tuberosum) c.v. Superchola*”. [Tesis de grado, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio. <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/1607>
- Hurtado, M.F. (2015) “Caracterización fitoquímica de dos extractos alelopáticos obtenidos de *Cinnamon canella* y *Piper angustifolium*, mediante cromatografía y/o espectrofotometría. Pg. 7 [Tesis de grado, universidad de las fuerzas armadas ESPE]. Repositorio <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/9764/1/T-ESPE-048720>.
- INTAGRI. 2018. *Phytophthora infestans*, un Patógeno devastador para las hortalizas. Serie Fitosanidad, Núm. 111. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. 4 p. <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/phytophthora-infestans-un-hongo-devastador-para-las-hortalizas>.
- Instituto de Ecología, A.C. (INECOL) (2018) *Cinnamomum verum*. Art. 25. <https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/ct-menu-item-25/planta-del-mes/37-planta-del-mes/658-canela>
- Leyva, F., Pimentel, S., Lozano, J., Alañón, H., Arraez, D., & Segura, A. (2011). *Alimentos-vegetales-autoctonos.utf8*. FABRO. <https://alimentos-autoctonos.fabro.com.mx/hierba-luisa.html>

- Manobanda, G. 2019. *Evaluación in vitro de tres extractos vegetales para el control de Phytophthora infestans y Puccinia pittieriana en papa (Solanum tuberosum)*. [Tesis de grado, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio
- Méndez, P. Y Gaete, N. (2021) “*Principales enfermedades que afectan al cultivo de papa*”. INIA Carillanca.
- Molina, N. 2001. “*Uso de extractos botánicos en control de plagas y enfermedades*” Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) No.59p.76–77. <https://repositorio.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/6884/a1752e.pdf>
- Morcía, C, Malnati, M. y Terzi V. (2012) *In vitro antifungal activity of terpinen-4-ol, eugenol, carvone, 1,8-cineole (eucalyptol) and thymol against mycotoxigenic plant pathogens. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 2012;29(3):415-22. doi: 10.1080/19440049.2011.643458. Epub 2012 Jan 19. PMID: 22257275.
- Ortiz, M., Ferrera, R. (2004). *Epidemiología del tizón tardío (Phytophthora infestans Mont de Bary) de la papa en zonas productoras del estado Táchira, Venezuela.* Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal Redalyc, 16(1): 47-54.
- Pérez, W., Forbes, G. (2008). Manual técnico. *El tizón tardío de la papa*. Lima, Perú. Centro Internacional de la Papa (CIP). <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/08/004271>
- Pineda, J. M. Calderón, A. & Castaño, J. (2020). *Guía ilustrada de enfermedades y patógenos en cultivos hortícolas* (Primera edición). Editorial Universidad de Caldas. pg 93
- Pumisacho, M; Sherwood, S (Ed). 2002. *El cultivo de la papa en Ecuador*. Quito, Ecuador: INIAP-CIP.
- Ramírez González, S. I., López Báez, O., Espinosa Zaragoza, S. y Wong Villarreal, A. (2016). *Actividad antifúngica de hidrodestilados y aceites sobre Alternaria solani, Fusarium oxysporum y Colletotrichum gloesporioides.* Revista mexicana de ciencias agrícolas, 7(8), 1879-1891. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?Script=sci_arttext&pid=S2007-09342016000801879&lng=es&tlng=es.
- Realpe, E. (2016). *Evaluación de la eficiencia de fungicidas protectantes y sistémicos para el control de tizón tardío (Phytophthora infestans) en el cultivo de papa en*

San Pedro de huaca provincia del Carchi. [Tesis de grado. Universidad Técnica del Norte]. Repositorio <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream>

Solarte, R & Osorio, O. (2014). Evaluación de la Concentración del jugo de fique (*Furcraea spp*) para el control *in vitro* de *Phytophthora infestans* en plantas de papa (*Solanum tuberosum L*). *Revista Scielo*, 25(5): 47-54.

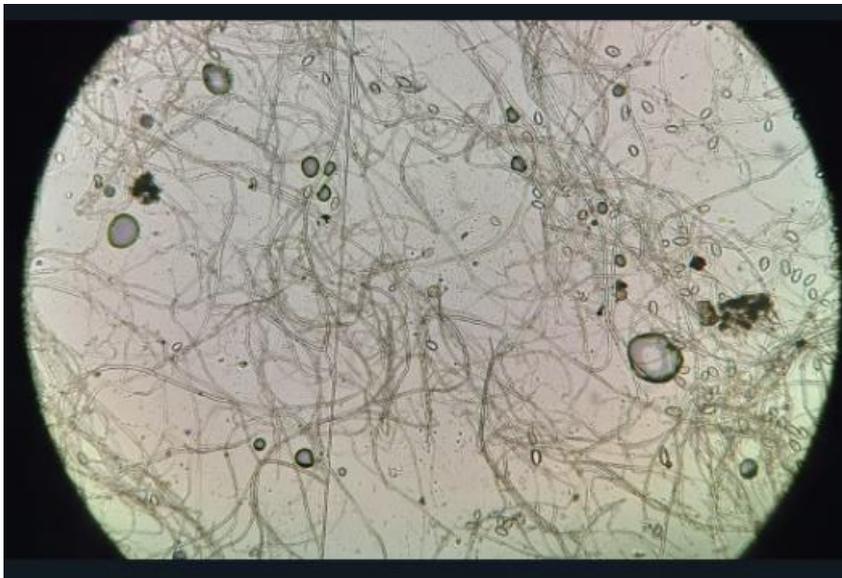
Vélez, R. (2018). Metabolitos secundarios, actividad antimicrobiana y letalidad de las hojas de *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) y *Melissa officinalis* (toronjil). <https://ojs.unemi.edu.ec/index.php/facsalud-unemi/article/view/727>

ANEXOS

ANEXO 1 Muestra vegetal portador de phytophthora infestans.

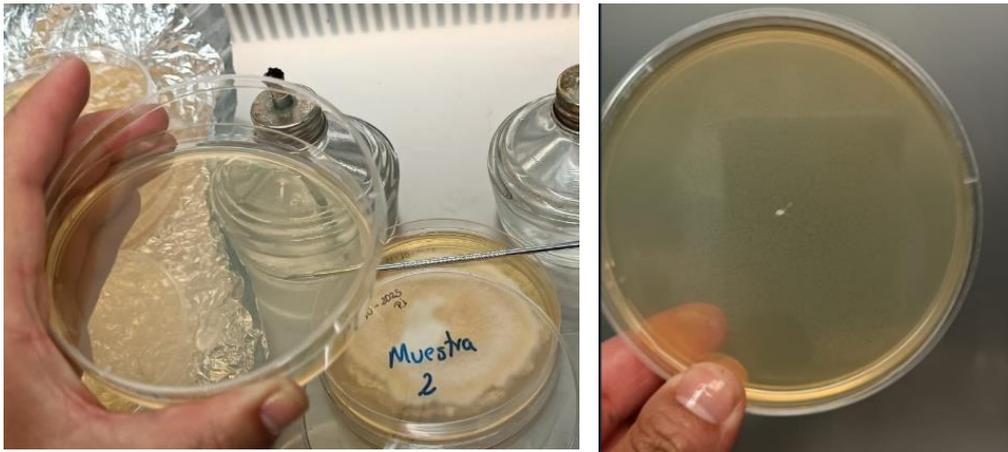
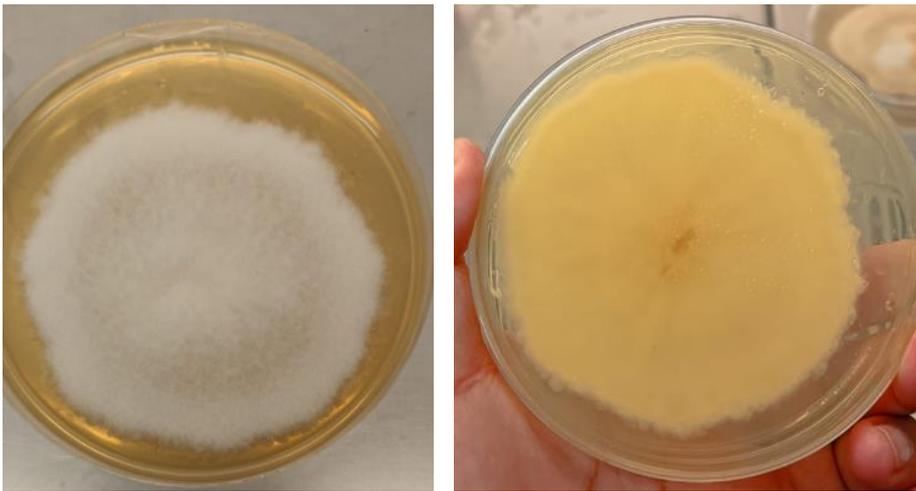
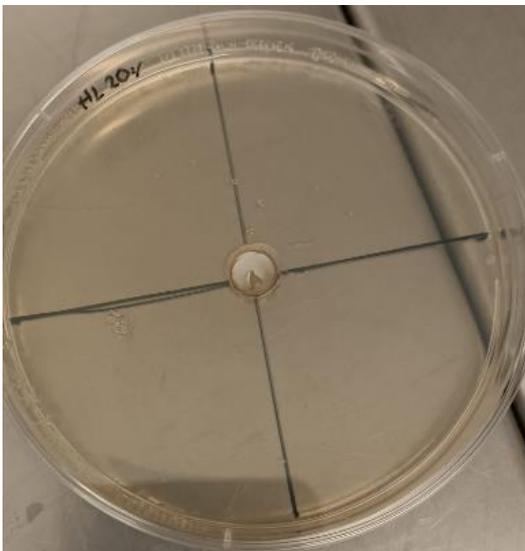


ANEXO 2 *Phytophthora infestans* de la muestra vegetal observada al microscopio



ANEXO 3 Multiplicación del hongo phytophthora infestans en cámara húmeda

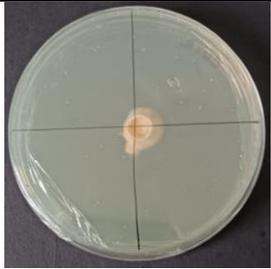
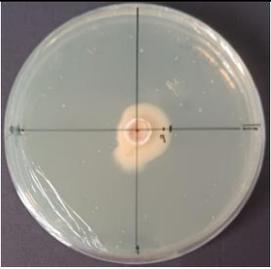
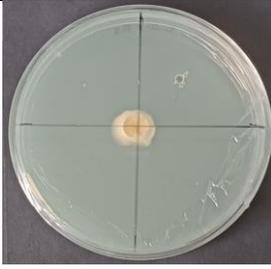
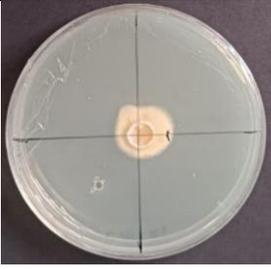
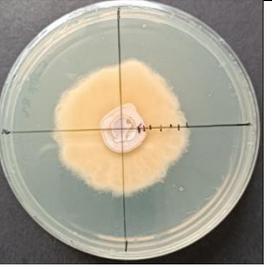
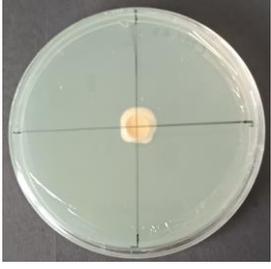
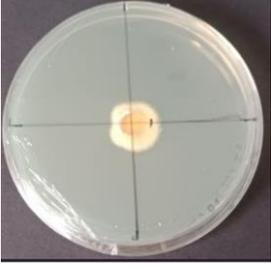


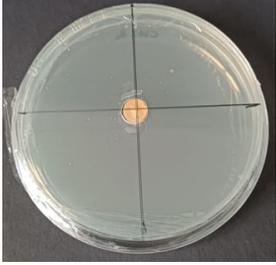
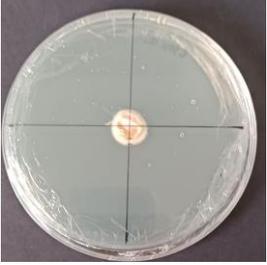
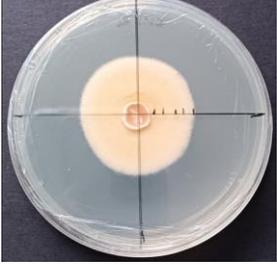
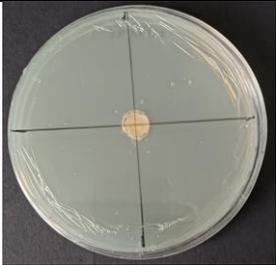
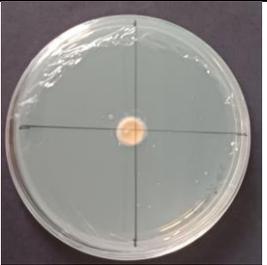
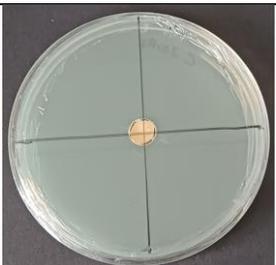
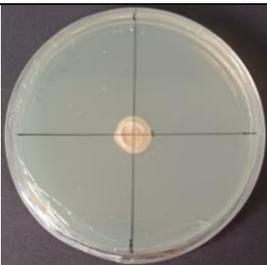
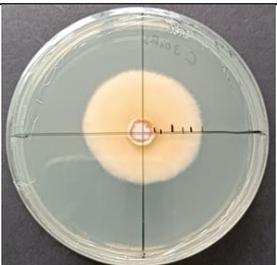
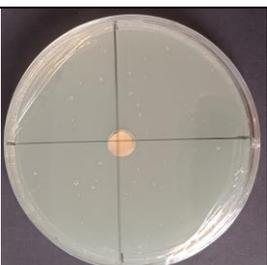
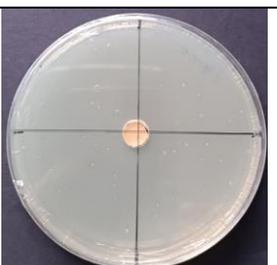
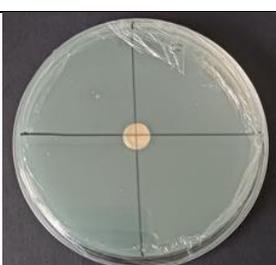
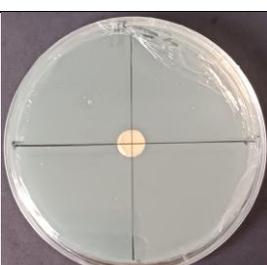
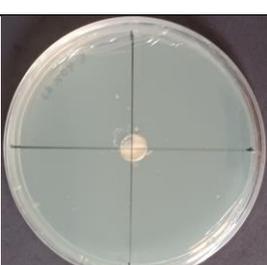
ANEXO 4. Siembra para la multiplicación del patógeno en medio PDA**ANEXO 5** Crecimiento del hongo después de 10 días.**ANEXO 6** Trazo de la cruz para la siembra y medición de crecimiento del hongo.

ANEXO 7 Siembra de discos del hongo en medio PDA con tratamiento

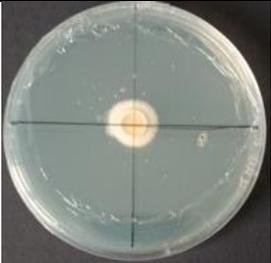
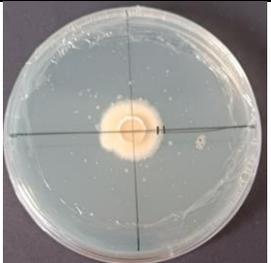
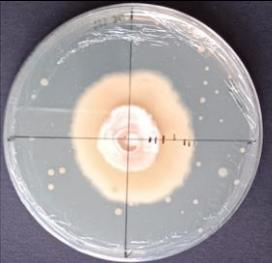
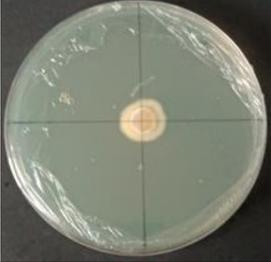
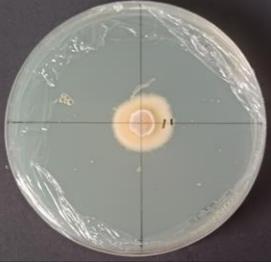
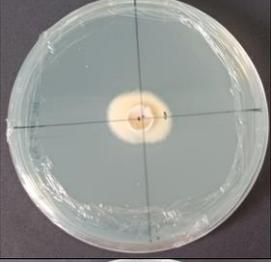
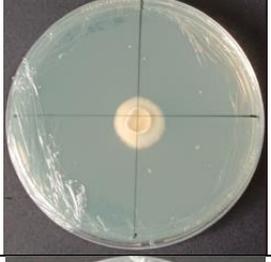
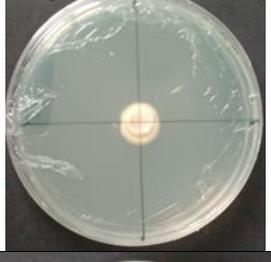
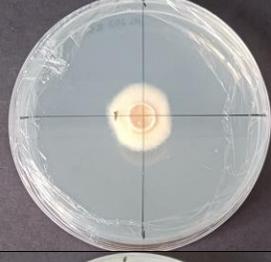
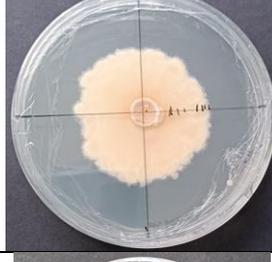
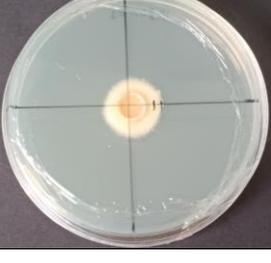
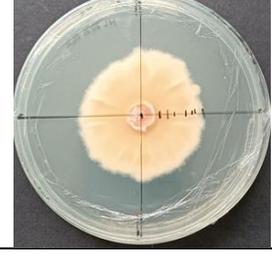


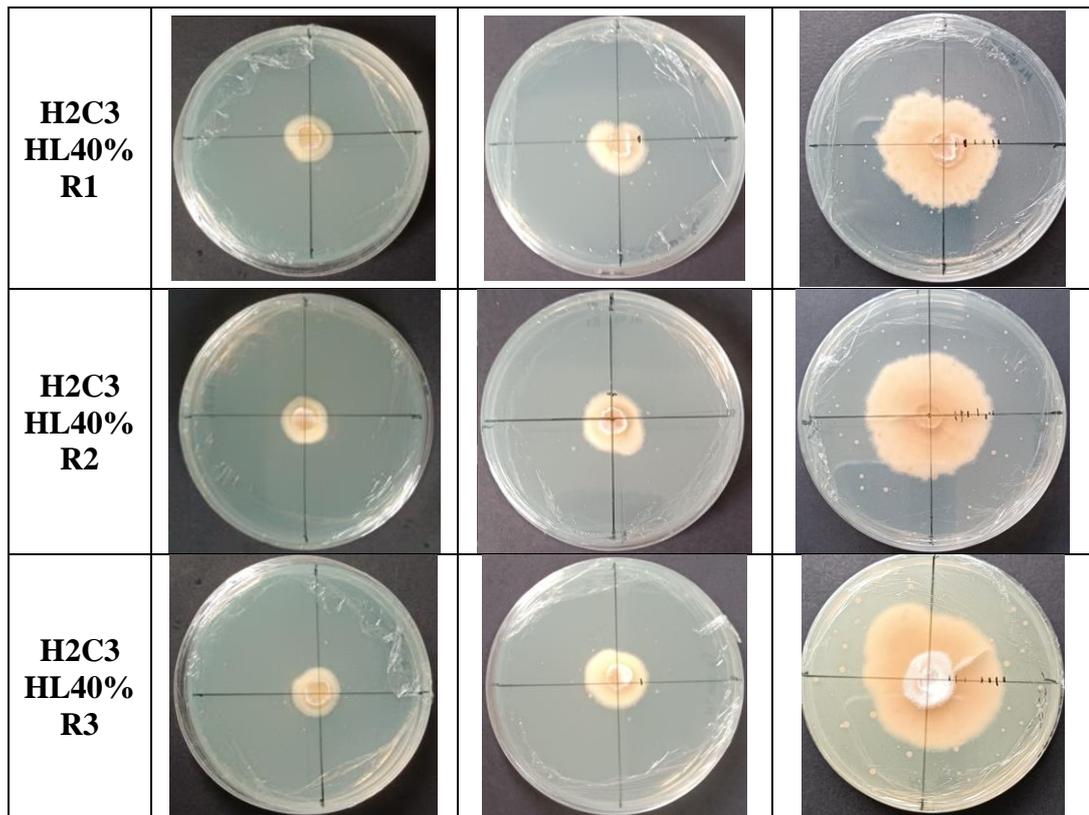
ANEXO 8 Crecimiento del hongo en medio envenenado con hidrolato (H) de canela (C) en tres concentraciones (C1, C2, C3) y con tres repeticiones (R1, R2, R3) cada una.

Tratam.	Día 3	Día 7	Día 9
H1C1 C20% R1			
H1C1 C20% R2			
H1C1 C20% R3			

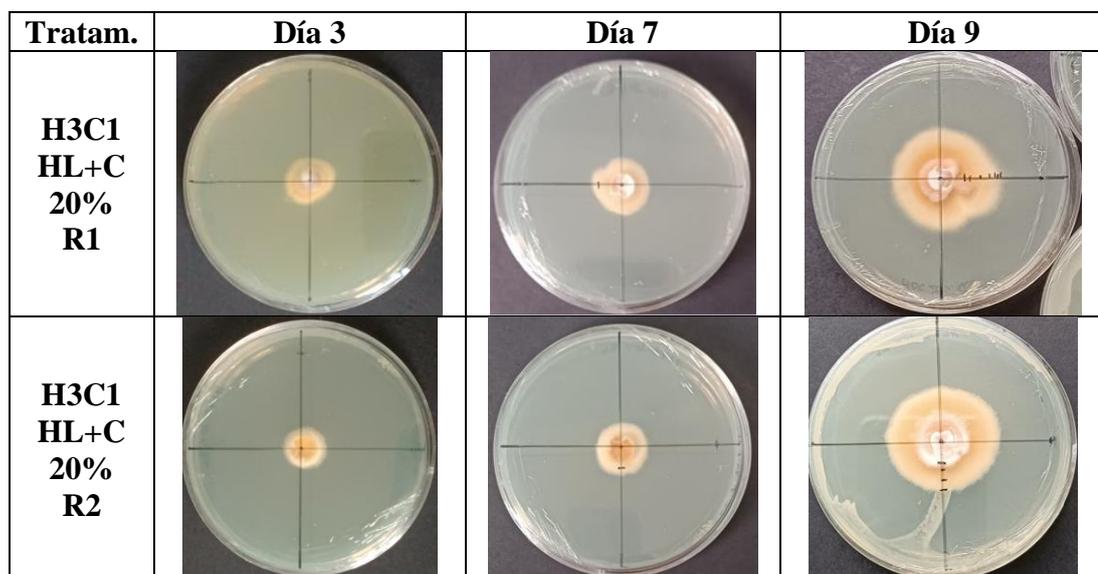
H1C2 C30% R1			
H1C2 C30% R2			
H1C2 C30% R3			
H1C3 C40% R1			
H1C3 C40% R2			
H1C3 C40% R3			

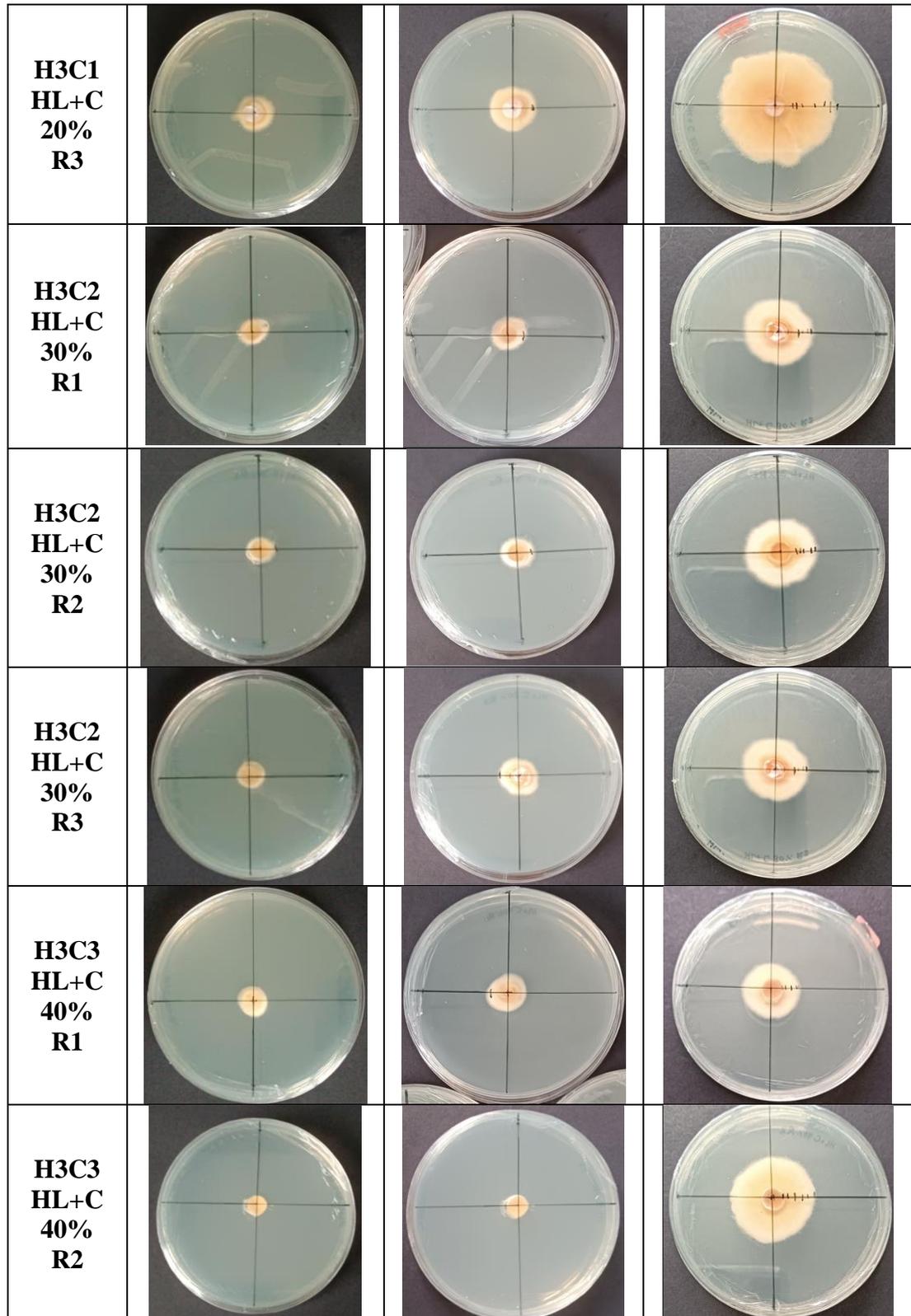
ANEXO 9 Crecimiento del hongo en medio envenenado con hidrolato (H) de hierba luisa (HL) en tres concentraciones (C1, C2, C3) y con tres repeticiones (R1, R2, R3) cada una.

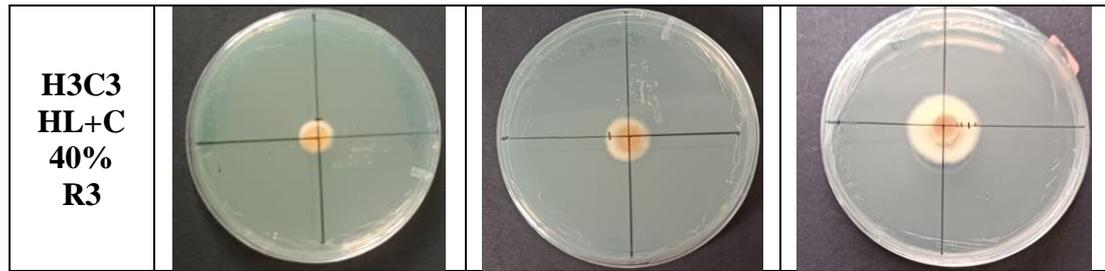
Tratam.	Día 3	Día 7	Día 9
H2C1 HL20% R1			
H2C1 HL20% R2			
H2C1 HL20% R3			
H2C2 HL30% R1			
H2C2 HL30% R2			
H2C2 HL30% R3			



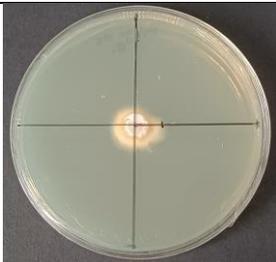
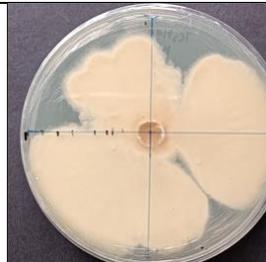
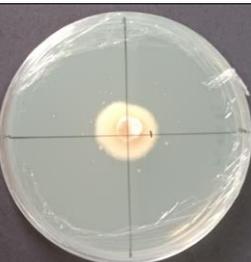
ANEXO 10 Crecimiento del hongo en medio envenenado con hidrolato (H) combinado de canela (C) y hierba luisa (HL) en tres concentraciones (C1, C2, C3) y con tres repeticiones (R1, R2, R3) cada una.

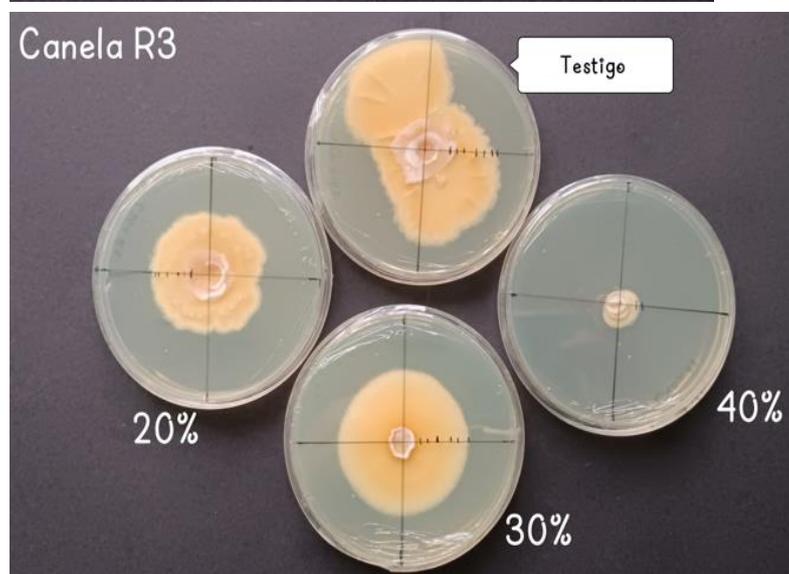
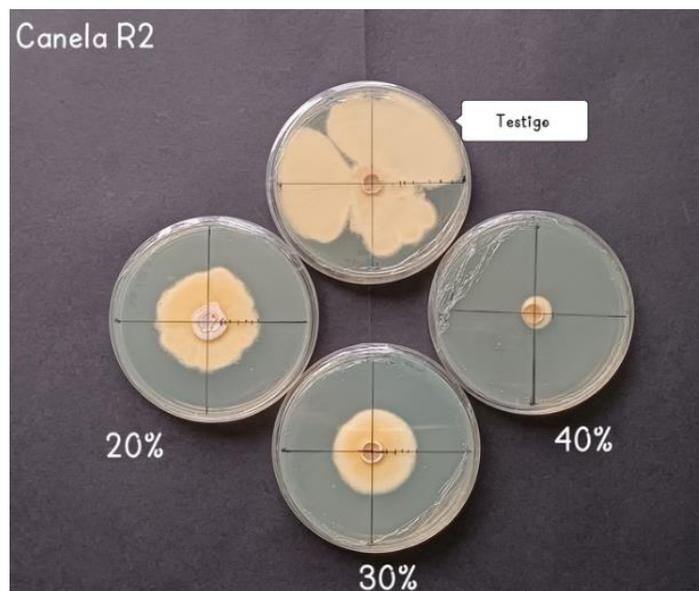
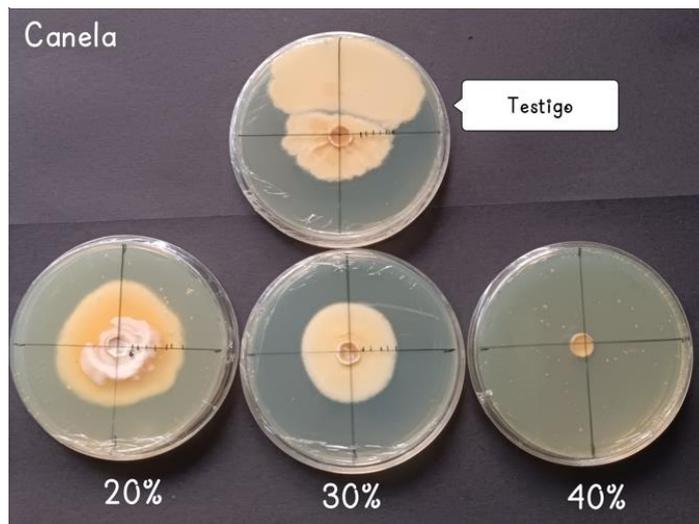


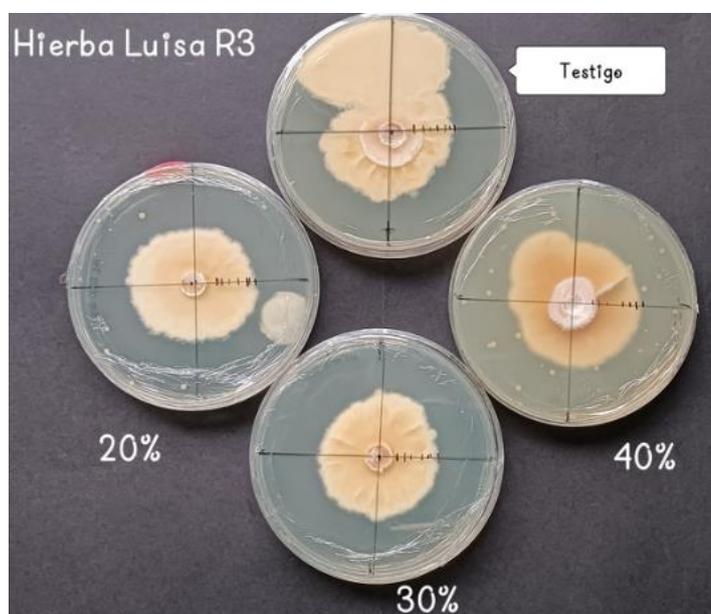
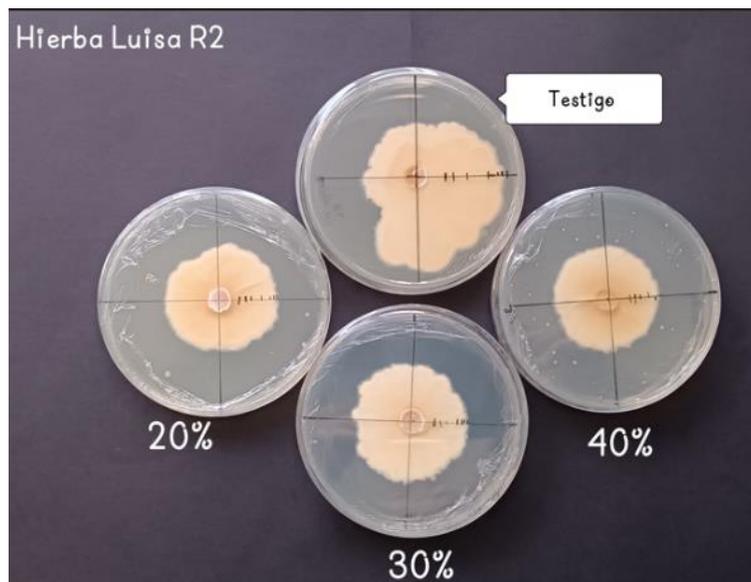
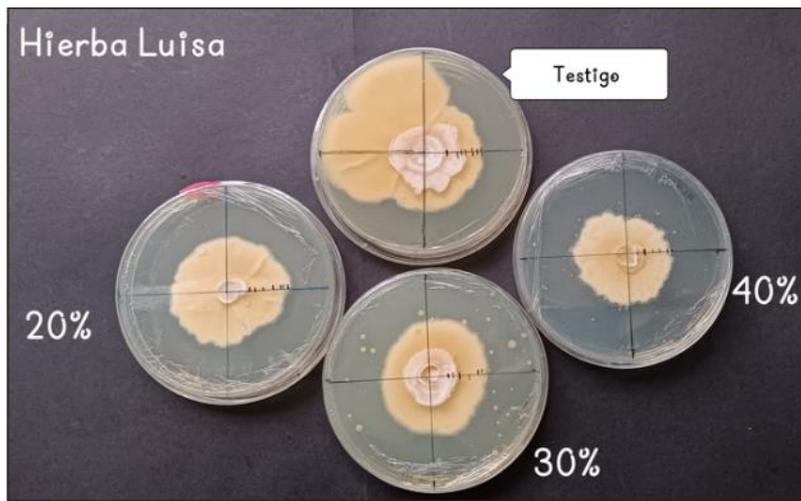


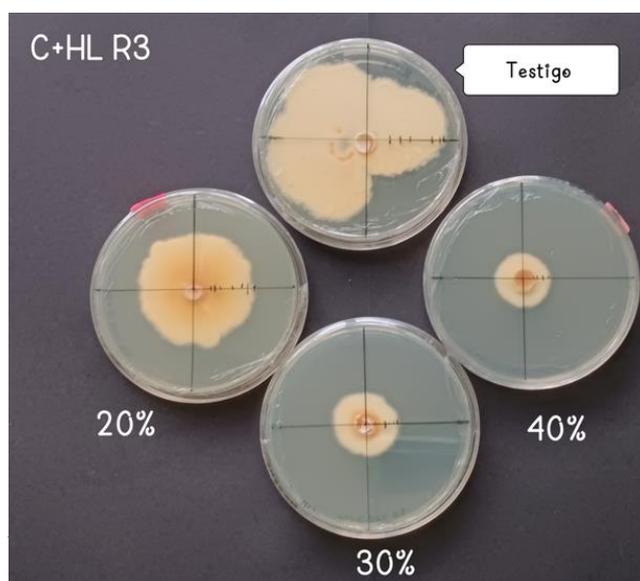
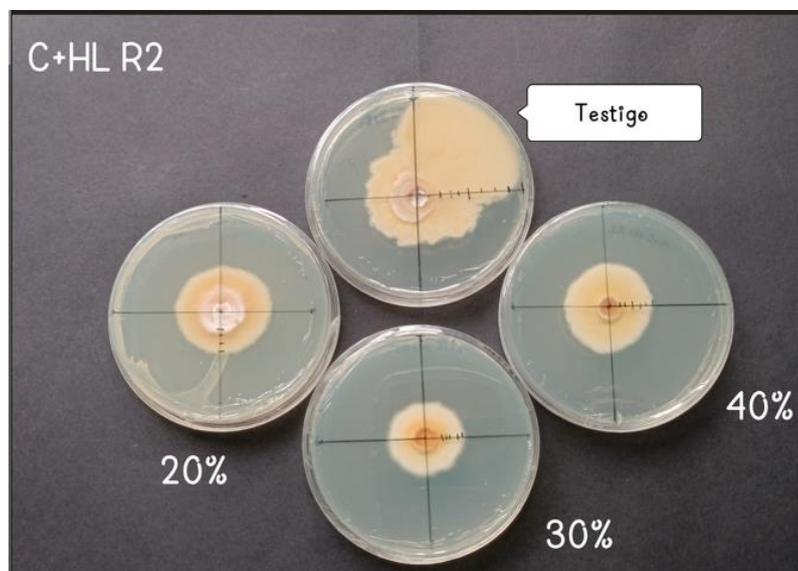
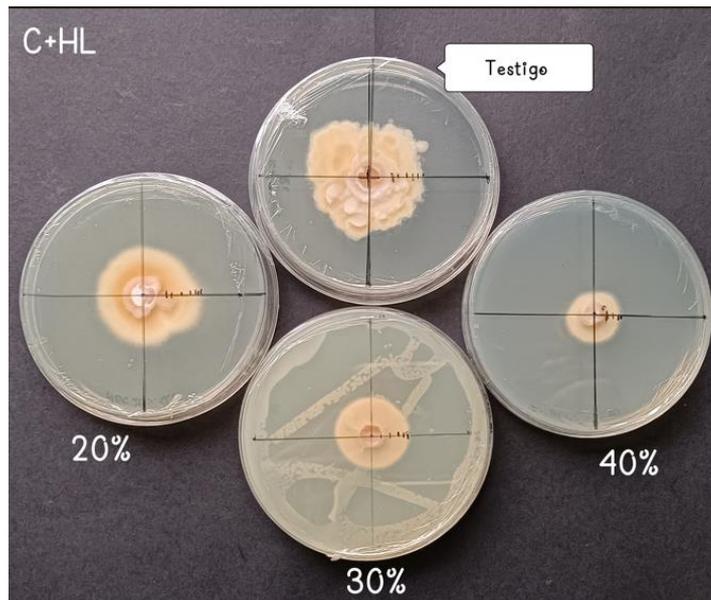


ANEXO 11 Crecimiento del hongo en un medio PDA sin tratamiento (Testigo)

Tratam.	REP.	Día 3	Día 7	Día 9
TESTIGO	1			
TESTIGO	2			
TESTIGO	3			

ANEXO 12 Crecimiento miceliar a los 9 días con hidrolato de canela

ANEXO 13 Crecimiento micelar a los 9 días con hidrolato de hierba luisa

ANEXO 14 Crecimiento miceliar a los 9 días con hidrolato de canela + hierba luisa

ANEXO 15 ADEVA para el porcentaje de crecimiento de *P. infestans* en los días 3,7 y 9.

DIA 3

Variable	N	R ²	Aj	CV
DIA 3	30	0,94	0,92	17,13

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	28568,43	9	3174,27	35,75	<0,0001
HIDROLATOS	10108,51	2	5054,25	51,22	<0,0001
CONCENTRACION	6884,85	2	3442,42	34,89	<0,0001
HIDROLATOS*CONCENTRACION	4830,36	4	1207,59	12,24	0,0001
T vs R	6744,71	1	6744,71	75,95	<0,0001
Error	1776,04	20	88,80		
Total	30344,46	29			

DIA 7

Variable	N	R ²	Aj	CV
DIA 7	30	0,85	0,79	20,40

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	18751,36	9	2083,48	12,95	<0,0001
HIDROLATOS	4159,94	2	2079,97	11,63	0,0006
CONCENTRACION	5183,72	2	2591,86	14,50	0,0002
HIDROLATOS*CONCENTRACION	4640,84	4	1160,21	6,49	0,0020
T vs R	4766,87	1	4766,87	29,62	<0,0001
Error	3218,52	20	160,93		
Total	21969,88	29			

DIA 9

Variable	N	R ²	Aj	CV
DIA 9	30	0,85	0,79	19,05

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	15112,81	9	1679,20	12,86	<0,0001
HIDROLATOS	2130,46	2	1065,23	7,34	0,0047
CONCENTRACION	4146,85	2	2073,42	14,29	<0,0001
HIDROLATOS*CONCENTRACION	3494,77	4	873,69	6,02	0,0029
T vs R	5340,73	1	5340,73	40,90	<0,0001
Error	2611,81	20	130,59		
Total	17724,61	29			

ANEXO 16 Tukey al 5% del porcentaje de crecimiento miceliar de *Phytophthora infestans*.

TRAT.	HIDROLATO	CONS.	DIA 3		DIA 7		DIA 9	
H1C1	CANELA	20%	70,7	C	76,8	B C D	77,6	C D E
H1C2		30%	13,8	A B	52,7	B C	58	B C D
H1C3		40%	0,00	A	8,57	A	15,9	A
H2C1	HIERBA LUISA	20%	76,6	C D	87,1	C D	89,7	D E
H2C2		30%	69	C D	76,3	B C D	79,6	D E
H2C3		40%	68,3	B C	72,9	B C D	75,1	C D E
H3C1	CANELA + H. LUISA	20%	71	C D	73,9	B C D	76,6	C D E
H3C2		30%	37,2	B	40,8	A B	41,7	A B C
H3C3		40%	29,6	B	38,5	A B	40,3	A B
TESTIGO	TESTIGO		100	D	100	D	100	E

ANEXO 17 ADEVA para el porcentaje de inhibición de *P. infestans* en los días 3,7 y 9.

DIA 3

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	28574,24	9	3174,92	35,77	<0,0001
HIDROLATOS	10100,60	2	5050,30	51,21	<0,0001
CONCENTRACION	6892,92	2	3446,46	34,95	<0,0001
HIDROLATOS*CONCENTRACION	4837,82	4	1209,46	12,27	0,0001
T vs R	6742,89	1	6742,89	75,98	<0,0001
Error	1774,98	20	88,75		
Total	30349,22	29			

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

DIA 7

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	18751,36	9	2083,48	12,95	<0,0001
HIDROLATOS	4159,94	2	2079,97	11,63	0,0006
CONCENTRACION	5183,72	2	2591,86	14,50	0,0002
HIDROLATOS*CONCENTRACION	4640,84	4	1160,21	6,49	0,0020
T vs R	4766,87	1	4766,87	29,62	<0,0001
Error	3218,52	20	160,93		
Total	21969,88	29			

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

DIA 9

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	15112,81	9	1679,20	12,86	<0,0001
HIDROLATOS	2130,46	2	1065,23	7,34	0,0047
CONCENTRACION	4146,85	2	2073,42	14,29	0,0002
HIDROLATOS*CONCENTRACION	3494,77	4	873,69	6,02	0,0029
T vs R	5340,73	1	5340,73	40,90	<0,0001
Error	2611,81	20	130,59		
Total	17724,61	29			

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

ANEXO 18 Porcentaje de inhibición de Phytophthora infestans

TRAT.	HIDROLATO	CONCENT.	DIA 3	DIA 7	DIA 9
H1C1	CANELA	20%	28,97 C	23,23 BCD	25,3 DE
H1C2		30%	86,18 AB	47,32 BC	42,01 BCD
H1C3		40%	100 A	91,43 A	84,14 A
H2C1	HIERBALUISA	20%	23,37 CD	20,41 CD	28,27 CDE
H2C2		30%	23,68 CD	25,82 BCD	33,16 BCD
H2C3		40%	27,14 CD	28,52 BCD	34,31 BCD
H3C1	CANELA + H. LUISA	20%	27,19 CD	23,38 BCD	29,66 CDE
H3C2		30%	62,84 B	60,49AB	58,37 ABC
H3C3		40%	70,4 B	62,92 AB	59,7AB
TESTIGO	TESTIGO		0	0	0