



**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

“Eficiencia de extractos etanólicos de vegetales para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima - 2019”

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO  
AMBIENTAL**

**AUTORES:**

Ana Gabriela, Apaza Lopez

(0000-0003-0541-8820)

Luis Santiago, Solis Aquino

(0000-0002-9864-4271)

**ASESOR:**

Mg. Fernando Antonio Sernaqué Auccahuasi

(0000-0003-1485-5854)

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN**

Calidad y gestión de los recursos naturales

LIMA – PERÚ

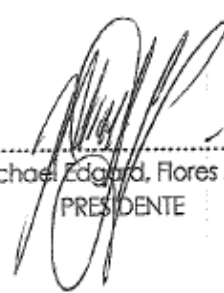
2019

El Jurado encargado de evaluar la tesis presentada por don (a) Luis Santiago Solís Aquino, cuyo título es:

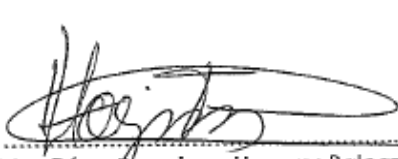
"Eficiencia de extractos etanólicos de vegetales para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima - 2019"

Reunido en la fecha, escuchó la sustentación y la resolución de preguntas por el estudiante, otorgándole el calificativo de: LB....(número) Dieciocho.....(letras).

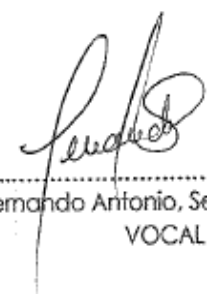
San Juan de Lurigancho 08 de julio del 2019.



Dr. Michael Edgardo Flores Mamani  
PRESIDENTE




Mg. César Francisco, Honores Balcazar  
SECRETARIO



Mg. Fernando Antonio, Semaqué Auccahuasi  
VOCAL

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Representante de la Dirección / Vicerrectorado de Investigación y Calidad	Aprobó	Rectorado
---------	----------------------------	--------	---	--------	-----------

 <b>UCV</b> UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO	<b>ACTA DE APROBACIÓN DE LA TESIS</b>	Código : F07-PP-PR-02.02
		Versión : 10 Fecha : 10-06-2019 Página : 1 de 1

El Jurado encargado de evaluar la tesis presentada por don (a) Ana Gabriela Apaza Lopez, cuyo título es:

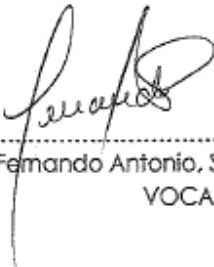
"Eficiencia de extractos etanólicos de vegetales para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima - 2019"

Reunido en la fecha, escuchó la sustentación y la resolución de preguntas por el estudiante, otorgándole el calificativo de: 8.....(número)  
Diecho.....(letras).

San Juan de Lurigancho 08 de julio del 2019.

  
 .....  
 Dr. Michael Edgar Flores Mamani  
 PRESIDENTE

  
 .....  
 Mg. César Francisco, Honores Balcázar  
 SECRETARIO

  
 .....  
 Mg. Fernando Antonio, Semaqué Aucchuasi  
 VOCAL

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Representante de la Dirección / Vicerrectorado de Investigación y Calidad	Aprobó	Rectorado
---------	----------------------------	--------	---	--------	-----------

## **Dedicatoria**

Dedico esta tesis en primer plano a Dios, por darme la vida y haber permitido que llegue hasta esta parte de mi formación profesional. A mi familia por ser el pilar más importante en todo lo que soy, ya que en toda mi etapa universitaria así como en mi trayecto de vida recibí sus apoyos incondicionales.  
(Ana Gabriela Apaza Lopez)

Dedico esta tesis enteramente a mis padres Luis Solis Espinoza y Martha Aquino Cordero, por su apoyo incondicional en todos los sentidos, por guiarme hasta lograr mis objetivos, porque ellos son mi motivación y razón de vida y todo lo que soy es gracias a ellos. (Luis Santiago Solis Aquino)

## **Agradecimiento**

Esta presente tesis se la dedicamos con mucho amor a Dios, por habernos brindado salud, sabiduría e inteligencia en los momentos complicados de nuestras vidas y por darnos las fuerzas necesarias para lograr este objetivo que anhelábamos.

Agradecemos a nuestros padres y familiares por el apoyo incondicional en todo momento que nos permitió culminar nuestros estudios y por habernos inculcado sus valores, consejos y motivación que nos ha permitido ser buenas personas.

Agradecemos a nuestro Asesor; Ing. Fernando Antonio Sernaque Auccahuasi ya que gracias a sus sabios consejos se pudo solidificar nuestros conocimientos para un mejor desarrollo de la tesis.

Agradecemos a nuestro colega; Téc. Sup. Jaime Borja por habernos brindado su tiempo, espacio y conocimientos para poder llevar a cabo la parte experimental de la tesis.

Finalmente agradecer a todas las personas que me apoyaron en diferentes formas a realizar el estudio.

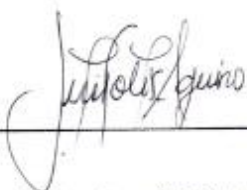
### Declaración de autenticidad

Yo Luis Santiago Solis Aquino y Ana Gabriela Apaza Lopez, con DNI 76188367 y 77160891, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ingeniería, Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental, declaramos bajo juramente que toda información y datos que acompañan a la tesis titulada “Eficiencia de extractos etanólicos de vegetales para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima – 2019”, son:

1. De nuestra autoría
2. Hemos respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas; por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente
3. La tesis no ha sido auto plagiada, es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados ni copiados y por lo tanto los resultados que se presenten en la tesis constituirán en aportes a la realidad investigada


En tal sentido asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Lima, 08 de Julio del 2019



**Luis Santiago Solis Aquino**

**DNI: 76188367**



**Ana Gabriela Apaza Lopez**

**DNI: 77160891**

## Presentación

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y títulos de la Universidad Cesar Vallejo presento antes ustedes la tesis tituladas: **“Eficiencia de extractos etanólicos de vegetales para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima – 2019”**, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Ingeniero Ambiental.

## INDICE

Página del jurado.....	II
Dedicatoria .....	IV
Agradecimiento.....	V
Declaración de autenticidad .....	VI
Presentación .....	VII
RESUMEN .....	XIV
ABSTRACT .....	XV
I. INTRODUCCION .....	16
1.1. Realidad Problemática .....	16
1.2. Trabajos previos .....	18
1.2.1. Antecedentes del ámbito internacional.....	18
1.2.2. Antecedentes del ámbito nacional.....	21
1.3. Teorías relacionadas al tema .....	23
1.3.1. Control natural.....	23
1.3.1.1. Fungicidas botánicos .....	23
1.3.1.2. Extractos etanólicos de vegetales .....	24
1.3.2. Propiedades antifúngicas de los vegetales.....	24
1.3.2.1. Ajos ( <i>Allium sativum</i> ) .....	24
1.3.2.2. Cebolla ( <i>Allium cepa</i> ) .....	26
1.3.2.3. Jengibre ( <i>Zingiber officinale</i> ) .....	27
1.3.3. Aspectos fitosanitarios del maíz ( <i>Zea mays</i> ).....	28
1.3.4. <i>Fusarium verticillioides</i> .....	29
1.3.4.1. Taxonomía.....	29
1.3.4.2. Morfología.....	30
1.3.4.3. Ciclo de vida.....	30
1.3.4.4. Sintomatología .....	31



1.3.4.5. Rutas de ingreso del <i>Fusarium verticillioides</i> .....	32
1.3.4.6. Acción tóxica – patógena .....	33
1.3.5. Bioensayo.....	34
1.3.5.1. Técnica de dilución del extracto en agar .....	34
1.3.5.2. Evaluación de la inhibición del crecimiento micelial .....	35
1.4. Formulación del problema.....	36
1.5. Justificación.....	37
1.6. Hipótesis .....	38
1.7. Objetivos.....	38
<b>II. MÉTODO.....</b>	<b>39</b>
2.1. Tipo, Nivel y Diseño de Investigación .....	39
2.1.1. Tipo de investigación.....	39
2.1.2. Nivel de investigación.....	39
2.1.3. Diseño de investigación.....	39
2.2. Variables, Operacionalización.....	40
2.2.1. Matriz de operacionalización de las variables.....	41
2.3. Población y muestra .....	42
2.3.1. Población.....	42
2.3.2. Muestra.....	42
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad .....	42
2.4.1. Técnicas.....	42
2.4.2. Instrumentos.....	42
2.4.3. Validez.....	43
2.4.4. Confiabilidad.....	43
2.5. Descripción del procedimiento para recolección de datos .....	43
2.5.1. Obtención de muestras infectadas por hongos <i>Fusarium verticillioides</i> del maíz en el huerto Santa Juana.....	43

2.5.1.1. Aislamiento e identificación del hongo <i>fusarium verticillioides</i> .....	45
2.5.1.2. Preparación de inóculo de hifas y conidios .....	45
2.5.1.3. Preparación y obtención de extractos etanólicos de vegetales .....	45
2.5.1.4. Preparación de dosificaciones de los extractos etanólicos de vegetales .....	46
2.5.2. Evaluación de control del hongo.....	47
2.5.2.1. Evaluación de la inhibición porcentual del crecimiento micelial.....	47
2.5.2.2. Experimento piloto.....	47
2.6. Método de análisis de datos .....	48
2.7. Aspectos éticos .....	48
III. RESULTADOS .....	49
IV. DISCUSIÓN .....	58
V. CONCLUSIONES .....	61
VI. RECOMENDACIONES.....	62
REFERENCIA BIBLIOGRAFICA .....	63
ANEXOS .....	78

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> <i>Cuadro de compuestos azufrados y actividad biológica del ajos.</i> .....	25
<b>Tabla 2.</b> <i>Tabla de ingreso de resultados para pruebas de inhibición del crecimiento micelial</i> .....	40
<b>Tabla 3.</b> <i>Matriz de operacionalización de variables</i> .....	41
<b>Tabla 4.</b> <i>Eficiencia del extracto etanólico Allium sativum para el control in vitro del hongo fitopatógeno Fusarium verticillioides</i> .....	49
<b>Tabla 5.</b> <i>ANOVA del extracto etanólico de Allium sativum para la inhibición porcentual del crecimiento micelial del Fusarium verticillioides</i> .....	50
<b>Tabla 6.</b> <i>Eficiencia del extracto etanólico Allium cepa para el control in vitro del hongo fitopatógeno Fusarium verticillioides.</i> .....	52
<b>Tabla 7.</b> <i>ANOVA del extracto etanólico de Allium cepa para la inhibición porcentual del crecimiento micelial del Fusarium verticillioides</i> .....	53
<b>Tabla 8.</b> <i>Eficiencia del extracto etanólico Zingiber officinale para el control in vitro del hongo fitopatógeno Fusarium verticillioides</i> .....	55
<b>Tabla 9.</b> <i>ANOVA del extracto etanólico de Zingiber officinale para la inhibición porcentual del crecimiento micelial del Fusarium verticillioides</i> .....	56

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura de algunos flavonoles presentes en la cebolla. ....	26
<b>Figura 2.</b> Estructura química de los principales compuestos fenólicos del jengibre.....	28
<b>Figura 3.</b> Ingreso de insectos en diversas fases del crecimiento de maíz.....	29
<b>Figura 4.</b> Ciclo vital de la morfogénesis en días de <i>Fusarium verticillioides</i> .....	31
<b>Figura 5.</b> Rutas de ingreso del <i>Fusarium verticillioides</i> en el maíz.....	33
<b>Figura 6.</b> Estructura química de los fumonisinas del grupo B. ....	34
<b>Figura 7.</b> Localización geográfica de zona de extracción de muestras infectadas (Fundo Sta. Juana).....	44
<b>Figura 8.</b> Gráfica de comparaciones de medias de la inhibición porcentual del crecimiento micelial del <i>Fusarium verticillioides</i> en los diferentes tiempos y dosis del extracto etanólico <i>Allium sativum</i> .....	51
<b>Figura 9.</b> Gráfica de comparaciones de medias de la inhibición porcentual del crecimiento micelial del <i>Fusarium verticillioides</i> en los diferentes tiempos y dosis del extracto etanólico <i>Allium cepa</i> .....	54
<b>Figura 10.</b> Gráfica de comparaciones de medias de la inhibición porcentual del crecimiento micelial del <i>Fusarium verticillioides</i> en los diferentes tiempos y dosis del extracto etanólico <i>Zingiber officinale</i> .....	57

## INDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1:</b> Matriz de consistencia .....	78
<b>Anexo 2:</b> Certificado de calibración del instrumento. ....	79
<b>Anexo 3:</b> Procedimiento para la preparación de Agar papa dextrosa peptona (PDAP).....	80
<b>Anexo 4:</b> Informe técnico de identificación del hongo <i>Fusarium verticillioides</i> .....	81
<b>Anexo 5:</b> Fotos microscópicas del <i>Fusarium verticillioides</i> .....	82
<b>Anexo 6:</b> Cultivo de cepas del <i>Fusarium verticillioides</i> proveniente de un maíz infectado	83
<b>Anexo 7:</b> Preparación y obtención de extractos etanólicos de vegetales.....	84
<b>Anexo 8:</b> Evaporación del etanol para la obtención de extracto crudo mediante el Rotavapor marca Boeco Germany .....	85
<b>Anexo 9:</b> Homogenización de los extractos etanólicos en diferentes dosis con APD P.....	85
<b>Anexo 10:</b> Plaqueo de soluciones homogenizadas (EEV + APD P) para su posterior solidificación. ....	87
<b>Anexo 11:</b> Cultivo de <i>Fusarium verticillioides</i> en el medio de PDAP + EEV e incubación. ....	88
<b>Anexo 12:</b> Prueba piloto .....	89
<b>Anexo 13:</b> Hoja de observación de la prueba piloto .....	90
<b>Anexo 14:</b> Crecimientos de medios testigos sin tratamientos.....	91
<b>Anexo 15:</b> Control del Extracto etanólico del <i>Allium sativum</i> en <i>Fusarium verticillioides</i> . ....	92
<b>Anexo 16:</b> Control del Extracto etanólico del <i>Zingiber officinale</i> en <i>Fusarium verticillioides</i> . ....	93
<b>Anexo 17:</b> Control del Extracto etanólico del <i>Allium cepa</i> en <i>Fusarium verticillioides</i> . ...	94
<b>Anexo 18:</b> Mediciones del crecimiento micelial de los fitopatógenos en el medio envenenado. ....	95
<b>Anexo 19:</b> Histogramas de promedios del crecimiento micelial en milímetros del <i>F. verticillioides</i> en los diferentes EEV, dosis y días.....	96
<b>Anexo 20:</b> Histogramas de promedios de porcentaje de inhibición en el crecimiento micelial del <i>F. verticillioides</i> en los diferentes EEV, dosis y días. ....	98
<b>Anexo 21:</b> Diagrama de flujo de la investigación.....	100

## RESUMEN

En la presente tesis se evaluó la eficiencia de los extractos etanólicos de *Allium sativum*, *Allium cepa* y *Zingiber officinale* sobre el crecimiento micelial del hongo *Fusarium verticillioides*, dicho fitopatógeno tiene el poder de infectar y provocar marchitez en cultivos del vegetal *Zea mays*. Se utilizó la técnica de dilución en agar, se hicieron 5 repeticiones por extracto y dosis, los cuales fueron medidos en 3 diferentes tiempos, además se utilizó el diseño experimental ANOVA de dos factores con un nivel de significancia de  $\alpha= 0.05$ . El extracto etanólico del *Allium sativum* presentó una inhibición en el crecimiento micelial del hongo en un 100 % con la dosis al 13 % (V/v), siendo su menor inhibición en el crecimiento micelial promedio de 76.05 % con la dosis al 11 % (V/v) en el día 5. El extracto etanólico de *Allium cepa* inhibió en un 100% al hongo con la dosis al 10 % (V/v) en sus tres días de medición, siendo su menor inhibición en el crecimiento micelial promedio de 48.72 % al 6 % (V/v) en el día 5 y el extracto etanólico del *Zingiber officinale* el cual tuvo un mejor rol en cuanto al efecto fúngico logró inhibir en un 100 % con la dosis al 8 % (V/v) en sus tres días de medición, siendo su menor inhibición en el crecimiento micelial promedio de 76.98 % al 6 % (V/v). Los extractos etanólicos de vegetales estudiados dan la apertura a un modo de biocontrol de hongos fitopatógenos en la agricultura convencional e industrializada.

**Palabras claves:** *Allium sativum*, *Allium cepa* y *Zingiber officinale*, fitopatógeno, micelial, biocontrol.

## ABSTRACT

In the present work the efficiency of the ethanolic extracts of *Allium sativum*, *Allium cepa* and *Zingiber officinale* was evaluated on the mycelial growth of the fungus *Fusarium verticillioides*, said phytopathogen has the power to infect and cause disease in *Zea mays* crops. The agar dilution technique was used, 5 repetitions were made by extract and dose, which were measured in 3 different times, in addition to the two-factor ANOVA experimental design with a level of significance of  $\alpha = 0.05$ . The ethanol extract of *Allium sativum* showed an inhibition in the mycelial growth of the fungus in 100% with the dose at 13% (V/v), being its lower inhibition in mycelial growth an average of 76.05% with the dose at 11% (V/v) on day 5. The ethanol extract of *Allium cepa* inhibited the fungus 100% with the dose at 10% (V / v) in its three days of measurement, being its lower inhibition in the average mycelial growth from 48.72% to 6% (V / v) on day 5 and the ethanolic extract of *Zingiber officinale* which had a better role in terms of the public effect inhibit in 100% with the dose at 8% (V / v) in Its three days of measurement, being its lower inhibition in mycelial growth average of 76.98% to 6% (V / v). The ethanolic extracts of the plants studied give the opening to a way of biological control of phytopathogenic fungi in conventional and industrialized agriculture.

**Keywords:** *Allium sativum*, *Allium cepa* and *Zingiber officinale*, phytopathogen, mycelial, biocontrol.

## I. INTRODUCCION

### 1.1. Realidad Problemática

La agricultura convencional así como la industrial se ha visto perjudicado por el desarrollo de grandes plagas fitopatógenas, los cuales alteran el crecimiento en el desarrollo del cultivo generando productos de baja calidad e incluso mortalidad del cultivo, lo cual implica realizar prácticas de remediación de acción genocida mediante agroquímicos, tal como señala Gonzales (2014) menciona que; los plaguicidas han ayudado a contribuir con el desarrollo intacto de los productos alimentarios y fibras de manera más factible, abundante, económica y eficaz, pero su uso descontrolado ha conllevado a graves consecuencias de resultados contradictorios, por una parte ha logrado impedir apariciones de enfermedades fitosanitarias que actualmente ocasionan graves problemas a nivel agroindustrial.

A su vez este tratamiento fitosanitario produce impactos ambientales y riesgos en la salud humana debido a sus diferentes compuestos químicos (ingredientes activos) que presentan en sus categorías y objetivo biológico a tratar logrando ser muy tóxicos, así como señalan Del Puerto, Suárez y Palacio (2014) que; el uso inadecuado por parte del hombre conlleva a que estos químicos se dispersen en el medio ambiente y se conviertan en contaminantes para los sistemas bióticos (fauna y flora) y abióticos (aire, suelo y agua) perjudicando su equilibrio y representando una amenaza para la salud humana. Por otro lado se deduce que los plaguicidas sintéticos interactúan a corto plazo sobre el medio ambiente aledaño donde son aplicados para su depredación perjudicando todo componente vivo a su paso, así como contribuir con la aniquilación de diversos organismos sensibles a su exposición que pueden ser beneficiosos para el ataque de plagas enemigas.

Mayormente una de las plagas fitopatógenas que perjudican al cultivo del *Zea Maiz* (maíz) es la fusariosis provocado por el hongo *Fusarium verticillioides*, causando marchitez debido al impedimento del fluido de agua y nutrientes en su estructura anatómica de la especie, ocasionada por una infección vascular del vegetal en el que el hongo ataca directamente de la raíz y termina por hospedarse en el tallo formando colonias fúngicas que la conllevan a la muerte. De acuerdo con Jiménez *et al* (2012) nos aclara que; dentro de las enfermedades provocadas por esta clase, las más relevantes son las del tipo vascular, estas al trasladar el transporte de agua y minerales esenciales a través del cuerpo del hospedero producen síntomas como marchitamiento, decaimiento y amarillamiento.



Por otro lado esta enfermedad está causando grandes pérdidas económicas a nivel mundial debido que es capaz de causar la mortalidad de un cultivo hasta en un 90%, la marchitez por fusarium es una de las enfermedades más letales del banano y otros cultivos en todo el mundo, ha provocado pérdidas en varias agroindustrias de diferentes continentes (Asia, Africa, Medio Oriente) levantando preocupaciones en la amenaza para la producción y comercio de este cultivo popular. (FAO, 2016).

Sin embargo aún no se ha encontrado un plaguicida de origen vegetal que pueda intervenir en el crecimiento del *Fusarium verticillioides*, en la mayoría de estudios relacionadas a este tema se han enfocado a otros géneros de hongos, además de que las concentraciones proporcionadas en temas de eficiencia de extractos o aceites esenciales no ha mostrado un control con precisión en sus evaluaciones, motivo por el cual preocupa a los investigadores. Según Pino, Sánchez y Rojas (2013) mencionan que existen muchos acontecimientos sobre la actividad biológica de sustancias presentes en los vegetales, pero dichos compuestos activos no se han experimentado en la mayoría de casos, además, la información que brindan algunos autores solo se relacionan con el uso medicinal, puesto que se deberían realizar más investigaciones científicas desde un panorama ecológico – químico para contribuir con alternativas en nuestros agroecosistemas.

Actualmente el huerto Santa Juana perteneciente al distrito de Paramonga, ubicado en la provincia de Barranca en el departamento de Lima, se ha visto perjudicada en gran parte de sus parcelas por este fitopatógeno del género fusarium, los pobladores aledaños que se benefician en las prácticas diarias por estos insumos y que de una forma se abastecen económicamente mediante el comercio de sus productos alimentarios, han tenido un desequilibrio en el bienestar, conllevando a realizar prácticas de remediación química o quemar de cultivos, contrayendo impactos a la salud y medio ambiente, así mismo este huerto se encuentra limitado con las cosechas agronómicas de caña de azúcar pertenecientes a la Industria “Paramonga”, en el que se especula que se da un mal mantenimiento de sus cultivos, se sospecha que debido a ello en los últimos años se ha incrementado el número de manifestaciones de estas enfermedades que actualmente están resistiendo en el medio.

## 1.2. Trabajos previos

### 1.2.1. Antecedentes del ámbito internacional

Rodríguez et al (2015) en su investigación; Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*) en *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum*. (Antifungal effect of phenolic and carotenoids extracts from chiltepin (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*) on *Alternaria alternata* and *Fusarium oxysporum*). Se analizó el efecto de extractos fenólicos y de carotenoides provenientes de frutos de chiltepín sobre el desarrollo micelial y de formación de conidios de *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum*. Para llevar a cabo el control del hongo se realizó el método de dilución de extracto en agar, colocando 50 uL de cada extracto fenólico al igual que el carotenoides a una concentración 100 mg/ml, en donde se midieron al tercer y quinto día tratamiento, del mismo modo que se contó con testigos para su posterior calculo en porcentajes de inhibición micelial. Como resultado se obtuvo que los extractos fenólicos presentaron eficiencia en la inhibición del crecimiento micelial del *Alternaria alternata* en un 38,46 % y disminuyeron de modo significativo la germinación de conidios al quinto día, en cuanto al *Fusarium oxysporum* no se observaron muchos cambios en el crecimiento micelial pero si en la disminución del desarrollo de conidios logrando alcanzar un 85% en relación al testigo. Los extractos de carotenoides presentaron inhibición en el crecimiento micelial del *Fusarium oxysporum* en un 38.5 % y en el desarrollo de conidios en un 85.3 en relación al testigo.

González et al (2015) en su estudio; “Evaluación in vitro de la actividad antifúngica de extractos de Agave (*Agave scabra*, Salm Dyck) contra hongos postcosecha” (“In vitro evaluation of antifungal activity of Agave (*Agave scabra*, Salm Dyck) extracts against post-harvest mushrooms”). Se determinó el efecto fúngico de extractos acuosos y etanólicos del Agave en el desarrollo de hongos filamentosos altamente infecciosos, en donde los hongos fueron extraídos de la papa y tomate. Para determinar su actividad antifungica se utilizó la técnica de difusión de disco en agar y la de dilución del extracto en agar. Su resultado más efectivo fue por parte del extracto etanólico contra el *Botrytis cinérea* y *Mucor* sp., y por el método de dilución del extracto en agar también inhibió el desarrollo de *Botrytis cinérea*, *Mucor* sp y *Penicillium* sp.

Jasso et al (2017) en su investigación, “Actividad antifúngica in vitro de etanol y extractos acuosos de hojas y ramas de *Flourensia spp.* contra hongos postcosecha” (“Antifungal activity in vitro of ethanol and aqueous extracts of leaves and branches of *Flourensia spp.* against postharvest fungi”). Tuvo la finalidad de evaluar el efecto antifungico de extractos etanolicos y acuosos de la especie *Flourensia spp* contra hongos fitopatogenos. Los resultados fueron eficaces en la inhibición del crecimiento micelial del *Fusarium oxysporum* y *Rhizopus stolonife* por parte de los extractos etanólicos de *Fluorensia spp* en comparación a los extractos acuosos del vegetal. Se concluye que los extractos etanólicos tienen actividad antifungica llegando al punto de sustituir a los fungicidas químicos.

Aguirre et al (2012) en su investigación; “Obtención y evaluación in vitro de la eficiencia de extractos con principios activos de eucalipto (*Eucalyptus globulus*), ajo (*Allium sativum*) y crisantemo (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) como fungicidas naturales para el control de *Botrytis cinerea*, *Phragmidium mucronatum* y *Sphaerotheca pannosa* presentes en el cultivo de rosas orgánicas”. Se analizó la actividad anti fúngica *in vitro* de extractos vegetales donde fueron obtenidos a través de hidrodestilacion y maceración con etanol al 96%, mediante 4 concentraciones (25, 50, 75 y 100% V/V) usando como diluyente alcohol. Los extractos que mejor eficiencia mostraron contra el *Botrytis cinérea* fueron el extracto alcohólico de eucalipto (100%), el extracto etanólico del ajo (75% y 100%) y el extracto etanólico de crisantemo (25% y 50%). Los extractos que mostraron mejor eficiencia fungicida contra el *Phragmidium mucronatum* fueron los extractos hidrodestilados de eucalipto(25%,50% y 75%), extracto etanolic de ajo (50% y 100%) y crisantemo (100%), y contra el *Sphaerotheca pannosa* fueron los extractos hidrodestilado de eucalipto (50% y 75%), extracto etanólico de eucalipto (100%), extracto alcohólico del ajo(100%) y extracto alcohólico de crisantemo (100%).

Xing et al (2014) en su estudio; “Inhibición del crecimiento y alteraciones morfológicas de *Fusarium verticillioides* por aceite de canela y cinamaldehído.” (“Growth inhibition and morphological alterations of *Fusarium verticillioides* by cinnamon oil and cinnamaldehyde”). De determino el poder inhibidor de los aceites esenciales extraídos de vegetales. El aceite de canela demostró ser el más efectivo en cuanto a la inhibición en el crecimiento del *F. verticillioides* ya que el control no sobrepaso de los rangos de 1.1 +- 0.1 cm entre los días 6 y 20, seguido del aceite esencial de menta, anís, eugenol y eucalipto.

Fajardo, Gonzáles y Castaño (2013) en su investigación; “Estudio de extractos vegetales en la inhibición de la liberación de zoosporas de *Spongospora subterranea* f. sp. subterranea”. Se analizó que extracto de origen vegetal y la dosis que logra inhibir en la formación de zoosporas, con la finalidad de usar los extractos para el dominio e inhibición de *Spongospora subterranea* f. sp. subterranea. Los extractos que resultaron mayor inhibición de zoosporas fueron *Datura stramonium* L aéreo 1% y 1.5 %, *Lippia alba* Mill. Aéreo 1% y 1.5 %, los cuales notaron diferencias significativas con un intervalos de confianza de 95%.

Ochoa *et al* (2012) en su estudio; “Evaluación in vitro de la actividad antifúngica de cuatro extractos vegetales metanólicos para el control de tres especies de *Fusarium* spp”. Tuvo como propósito evaluar la actividad fungicida de los extractos de pirul, chirimoya, canela y tabaquillo sobre el *Fusarium oxysporum*, *Fusarium culmorum* y *Fusarium solani*. Para determinar la inhibición del crecimiento micelial, se utilizó la técnica de medio envenenado, donde se pusieron a prueba diferentes concentraciones de extractos. Los resultados mostraron que los extractos de chirimoya a una dosificación de 10000 ppm inhibió el desarrollo de micelios hasta 2.56 % y la canela a una dosificación de 50 ppm inhibió el desarrollo de micelios hasta 31.81%.

Rodríguez *et al* (2012). En su estudio; “Actividad antifúngica de los extractos de Acacia farnesiana sobre el crecimiento in vitro de *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici”. (“Antifungal activity of Acacia farnesiana extracts on the in vitro growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. Lycopersici”). Se determinó el efecto antifungico de ambos extractos (hidroalcoholico y acuoso) contra el hongo fitopatogeno *F. Oxysporum* mediante el porcentaje de inhibición en el crecimiento de micelio en diversos tiempos. Los extractos presentaron más de un 90 % de inhibición en el desarrollo de micelio desde la primeras 72h a partir de la inoculación, por otro lado se comprobó el efecto anti fúngico de los mismo sobre el hongo, adicionalmente se analizó y confirmo la aparición de metabolitos con acción antimicrobiana.

Vásquez *et al* (2014). En su investigación; “Aceites esenciales y extractos acuosos para el manejo in vitro de *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici y f. solani”. (“Essential Oils and Aqueous Extracts for the *in vitro* Management of *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici and

F. solani”). Se evaluó diferentes concentraciones de aceites esenciales y extractos vegetales acuosos sobre el crecimiento micelial y esporulación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) y *F. solani*. Se determinó que existe una respuesta diferencial entre las especies 2 y 3 de FOL inclusive entre aislamientos de una misma especie. Los aceites esenciales de *Chenopodium álbum* (0.3%) y *C. ambrosioides* (2%) inhibieron completamente el crecimiento y esporulación del *Fusarium* por otro lado los extractos acuosos también analizados como; el de *Beta vulgaris* demostró mayor reducción del crecimiento (38%) y esporulación (61%) en el crecimiento del micelio en las cuatro cepas usadas.

### 1.2.2. Antecedentes del ámbito nacional

Flores, Chico y Cerna (2015). En su investigación; “Actividad antagónica in vitro de *Clonostachys rosea* sobre *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani* y *Botrytis cinérea*”. Se evaluó la capacidad antagónica de *Clonostachys rosea* sobre el desarrollo de: *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani* y *Botrytis cinérea*, analizaron aislamientos, monocultivos y microcultivos de los hongos fitopatógenos, al igual que las cepas de *C. rosea* en cultivos de DPA (Agar papa dextrosa) empleando cultivos duales. Se pudo concluir que la capacidad antagónica de *C. rosea* sobre *B. cinérea* (grado 2) y *f. oxysporum* (grado 2), así como, baja capacidad antagónica frente *A. solani* (grado 3), concluyendo que *C. rosea* ejecuta una franca actividad antagónica.

Alburqueque Y Gusqui (2018) en su estudio de; “Eficacia de los fungicidas químicos para el control in vitro de diferentes fitopatógenos en condiciones controladas”. (“Effectiveness of chemical fungicides for in vitro control of different phytopathogens in controlled conditions. Arnaldoa”). Tuvo como objetivo medir la eficacia de productos químicos mediante la prueba de alimento envenenado in vitro. Se pusieron a prueba 7 ingredientes activos: tiabendazol, azoxistrobin, carbendazim, sulfato de cobre pentahidratado, fosfito de cobre, clorotalonil y extracto de *Melaleuca alternifolia*, en este presente estudio se determinó el porcentaje de inhibición de desarrollo de micelio. En esta prueba in vitro se obtuvo un 100 % PICM para: *R. solani* con sulfato de cobre pentahidratado; *P. infestans* y *S. sclerotiorum* con azoxistrobin; *R. solani*, *F. oxysporum*, *L. theobromae*, *S. sclerotiorum*, *C. gloeosporoides* y *Penicillium* spp. con carbendazim; *F. oxysporum*, *B. cinerea*, *L. theobromae*, *S. sclerotiorum* con fosfito de cobre; *R. solani*, *F. oxysporum*, *L. theobromae* y *Penicillium* spp. Con tiabendazol. El único extracto vegetal que se estudio tuvo menor

porcentaje de inhibición en el desarrollo de micelio para *F. Oxysporum* y *R. Solani* con una inhibición del patógeno del 69,5 y 64,8 %.

Rubio *et al* (2008). En su estudio; “Resistencia in vitro de *Rhizoctonia solania* y *Fusarium oxysporium* a los fungicidas Benzomil 500, Rhizolex-T y Homai-WP”. Se determinó la resistencia, expresada en crecimiento, del *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* a los fungicidas Benzomil 500, Rhizolex-T y Homai-WP, se desarrolló ensayos con tres dosis diferentes para cada tipo de fungicidas, el estudio se realizó en placas de Petri con agar Sabouraud , realizando cultivos monospóricos para el *F. oxysporum* y para el *R. solani* fue sembrado por suspensión de hifas, las incubaciones se realizaron a temperatura ambiente durante 12 días y la lectura, midiendo el radio de crecimiento diario. Se logró determinar que el mayor porcentaje de crecimiento de *f. Oxisporum* fue la concentración de 1500 ppm de benzomyl 500(32.78 %), 3500 ppm de Rhizolex (24.44 %); para *R. solani*, el mayor porcentaje se dio a 750 ppm (9.27%), entonces se concluyó que el *F. Oxisporum* presenta resistencia al Benzomyl 500 y Rhizolex-T, y *R. solani* es resistente a Benzomyl 500; Homai WP inhibió el desarrollo de *F. Oxisporum* y *R Solani*.

Julca *et al* (2015). En su estudio; “Efecto de seis fungicidas sobre el crecimiento in vitro de *Mycena citricolor* (Berk & Curt)”. Tiene como objetivo evaluar el efecto de seis antifungicos sobre el desarrollo in vitro de *Mycena citricolor* aislado de café var. Catimor. Se analizaron siete tratamientos [T1 = Antracol (Propineb), T2 = Alto (Cyproconazol), T3 = Impala (Imazalil), T4 = S-Kekura (Mancozeb), T5 = Silvacur Combi (Triadimenol + Tebuconazol), T6 = Sportak (Prochloraz) y el T7 = Testigo (sin tratar)]; para todos los fungicidas se aplicó una concentración de 3%. Como resultado se obtuvo que los 6 fungicidas poseen efectos negativos y significativos sobre el desarrollo del fitopatógeno, los fungicidas de nombre Antracol y S-kekura fueron los insumos menos eficientes mientras que Silvacur Combi y Sportak inhibieron completamente el desarrollo del hongo durante la etapa del bioensayo.

### **1.3. Teorías relacionadas al tema**

#### **1.3.1. Control natural**

Pérez (2012) nos comenta que; la aplicación de los plaguicidas de origen vegetales se ha practicado desde nuestros ancestros, en la antigua china, Egipto, Grecia, India e incluso todo Europa y América del norte, reportando que existió 50 años antes de la aparición de los plaguicidas químicos. Estos genocidas botánicos se utilizaron en la antigüedad debido a las múltiples ventajas que tenía el hombre; disponibilidad suficiente de los recursos naturales, fácil accesibilidad, bajo costo de producción y baja toxicidad.

Actualmente su empleo ha tomado fuerza en el mundo fitosanitario, avances científicos han ido estudiando su potencial genocida en enfermedades fitopatógenas mediante extractos de plantas vegetales, aceites esenciales e incluso microorganismos benéficos capaces de combatir plagas, tal como nos menciona Borrego (2015); su uso a nivel mundial de biocidas ha aumentado cada día, actual mente son utilizados como insecticidas, fungicidas, bactericida y esto es debido a su baja resistencia que generan en los organismo vivos, los seres humanos están menos expuestos a toxicidad, son eficaces en cuanto su poder genocidas y son compatibles con otros métodos de control.

##### **1.3.1.1. Fungicidas botánicos**

Celis et al (2008) nos menciona que las plantas presentan numerosos compuestos químicos que se producen naturalmente, en el que con ellas se pueden aprovechar para contrarrestar variedades de enfermedades fitopatógenas en los cultivos, su efecto protector y repelente va desde la toxicidad aguda así como su poder controlador para el crecimiento y desarrollo del hongos, donde incluso dicho efecto también inhibe la proliferación de bacterias y virus.

La aplicación de fungicidas botánicos es todo agente biológico de origen vegetal, que controla plagas y enfermedades de los cultivos, los cuales pueden ser utilizados en forma de extractos naturales o plantas transgénicas, es una alternativa ecológica que se utilizaron para el control de los insectos y que ahora son destinados para una gran diversidad de usos genocidas en microorganismos que impiden el desarrollo del crecimiento vegetal.

### **1.3.1.2. Extractos etanólicos de vegetales**

Según Iturbide et al (2017); el preparado de extractos vegetales etanólicos que se extraen de procesos químicos simples dan la apertura a un modo de biocontrol de fitopatógenos en la agricultura intensiva, ya que ha demostrado un alto poder efectivo ante el desarrollo de hongos infecciosos, bacterias y nematodos, aislados en una amplia diversidad de cultivos. Los extractos vegetales en muchas plantas silvestres han demostrado tener efecto fungitoxico sobre variedades de patosistemas. Rodríguez, Morales y Ramírez (2010) nos indican que los extractos vegetales para el control de plagas promueve la agricultura sostenible debido a su alta efectividad, bajo costo y no impactante con el medio ambiente.

Así también Cazar *et al* (2014) comenta que diversos pesticidas son preparados a partir de extractos de plantas, donde estos presentan combinaciones de principios activos extraídos por medio de un solvente adecuado, por lo que luego es destilado y el residuo o extracto crudo es ajustado a una dosis para someterlos en bioensayos *in vitro*. Por otro lado, según Apolonio et al (2017) nos aclara que es de gran importancia sustituir el uso de químicos por alternativas amigables como los extractos vegetales que atribuyen poder antifúngico, estos no persisten en los ecosistemas y son biodegradables, ya que presenta algunos compuestos de actividad biológica volátiles.

### **1.3.2. Propiedades antifúngicas de los vegetales.**

#### **1.3.2.1. Ajos (*Allium sativum*)**

Aller (2008) reporta que el Ajos que forma parte de la familia liliáceas del género *Allium* en los últimos años ha sido sometido a estudios científicos reportando que pueden justificar su uso como agente antifúngico, antimicrobiano, antitrombotico y antihipertensivo.

Diferentes especies de hongos han demostrado ser sensibles ante el ajos debido que esta especie presenta componentes sulfurados tales como la aliína que mediante la enzima alinasa se convierte en alicina, esta sustancia mencionada es la que la caracteriza de su propiedad antifúngica, tal como menciona Figueroa et al (2015); Las cualidades curativas o medicamentosas del ajos se debe a los grupos de azufre que contienen, como la alicina y el ajoene, sustancias activas que se crean cuando son triturados, machacados, fermentados o



cocidos. La acción antimicrobiana de esta sustancia es inhibiendo de algunas enzimas causantes de las infecciones ocasionadas por hongos, virus ó bacterias.

Meriga, Mopuri y Muralikrishna (2012) nos revela que; recientes estudios manifiestan que el *Allium sativum* no solo es benéfico como tratamiento médico, si no también es utilizado en diferentes cultivos como repelente contra diferentes enfermedades sanitarias debido que presentan sustancias químicas volátiles azufradas y se comprueba que son los responsables de dicha acción genocida ante hongos.

Es por ello que el ajo ha sido utilizado en todo el mundo como antiséptico ya que se debe a que presenta además sulfuro de alilo, garcilina, sulfuro de polivinilo y sulfuro de aquilo entre Otros, este vegetal contiene 40% de azufre por lo que se supone su principio fungistático.

**Tabla 1.** Cuadro de compuestos azufrados y actividad biológica del ajos.

COMPUESTO	ACTIVIDAD BIOLOGICA
Aliína	Hipotensora, hipoglucemiante.
Ajoeno	Previene la formación de coágulos, ayuda a disolverlos. Antiinflamatorio, vasodilatador, hipotensor, antibiótico.
Alicina y Tiosulfatos	Antibiótico, antifúngico, antiviral.
Alil mercaptano	Hipocolesterolemia, proviene la aterosclerosis, antitumoral, antidiabética, hipotensora.
Sulfuro de dialilo y afines	Hipocolesterolemia. Aumenta la producción de enzimas desintoxicantes, anticancerígeno. Previene los daños químicos del ADN.
S- alil- cisteina	Hipocolesterolemia, antioxidantes, quimioprotectores frente al cáncer.

**Fuente:**(Rojas y Villca, 2011)

### 1.3.2.2. Cebolla (*Allium cepa*)

Quintana et al (2010); el uso de este vegetal en hongos ha afectado en la etapa del desarrollo como la germinación de esporas, desarrollo del micelio y esporulación. Los aceites o extractos acuosos del *Allium cepa* presenta efectos antifungicos para combatir ciertos especies fitopatas debido a que presenta compuestos organosulfurados que además ejercen distintos efectos biológicos como inhibición de la proliferación de células tumorales, efectos microbiano y antioxidantes.

Jerez et al (2017); La cebolla tiene su poder activo biológico gracias a dos grandes grupos químicos; los flavonoides y los sulfoxidos, dentro de los flavonoides se encuentra la quercentina y es el que representa en su totalidad el poder además también están los polifenoles que están presentes en los bulbos que son compuestos organicos vegetales que también ha demostrados efectos bioactivos. Avila *et al* (2011) nos menciona que los flavonoides son considerados por el hombre como un fitomedicamento debido que es sus diversos estudios ha reportado que poseen actividades antifungicas en el fitopatogeno *fusarium*.

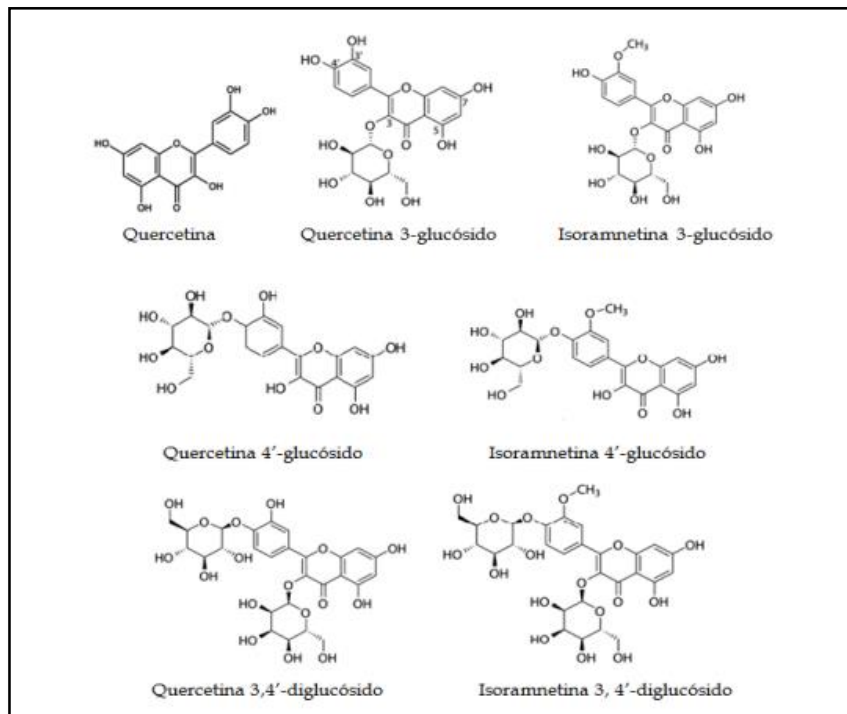


Figura 1. Estructura de algunos flavonoles presentes en la cebolla.

Fuente:(Benítez, 2011)

Los derivados de la cebolla (extractos etanolicos, extractos acuosos o aceites vegetales) han demostrado tener propiedades antifungicas ante mohos y levaduras, este poder de las sustancias bioactivas son debidos a que presentan compuestos azufrados siendo como principales agentes; el mono, di-, tri- y tetrasulfurosos con diferentes grupos del alquilo, Tal como nos comenta Vázquez, Cruz y Ayala (2015); las sustancias antimicrobianas de la cebolla han logrado inhibir el crecimiento de la actividad de microorganismo patógenos, logrando incluso retraer la producción de micotoxinas producidas por estas, donde se comprobó que dicho efecto es debido a los componentes azufrados, sobre todo a los que están presentes en su fracción volátil.

### **1.3.2.3. Jengibre (*Zingiber officinale*)**

Ramírez et al (2011); El jengibre (*zingiber officinale*) ha mostrado efectos sobre la inhibición en cuanto al desarrollo de numerosos tipos de hongos y bacterias que ocasionan dolencias en animales y cultivos vegetales(a nivel de campo y pos-cosecha), además esta especie evidencia actividad anticancerígena y antiviral debido a sus componentes activos. Los extractos o aceites esenciales del jengibre son de gran de interés cuando se quiere hablar de medicina ya que sus propiedades asociadas al consumo tienen poder antioxidante, antimicrobiano, antiespasmódico, etc., es debido a la presencia de algunas sustancias químicas presentes en el vegetal, tales como el gingerol y shogaol.

Segun Garcia et al (2013); explica que el jengibre es un vegetal que presenta efectos antifungicos en 60 microorganismos patógenos ensayados, entre ellos logrando al punto de controlar al *Fusarium verticillioides* y su producción en fumonisinas B1 (FB1), B2 (FB2) y B3 (FB3), FB1; que es el más tóxico y se encuentra en niveles altos), además altera su morfología de las microconidias, mediante el uso de su aceite esencial.

Zambrano (2015) argumenta que; las propiedades químicas (gingerol y shoagol) presentes en el jengibre ha logrado que esta especie sea relevante y aplicada en la industria medicinal debido que presenta componentes fenólicos en el cual lo caracteriza por su poder antimicrobiano haciendo una hiperacidificación en la interfase de la membrana plasmática del microorganismo.

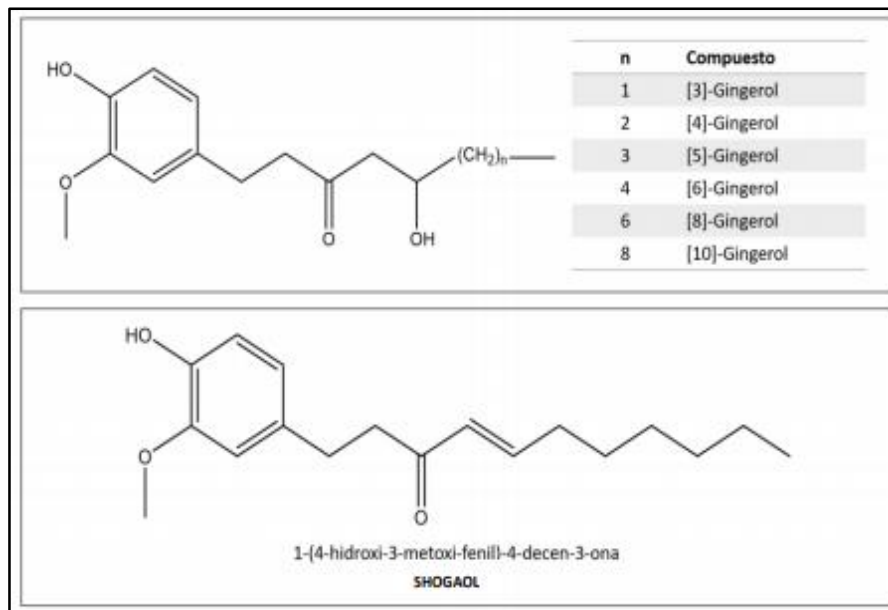


Figura 2. Estructura química de los principales compuestos fenólicos del jengibre.

Fuente:(Hernández, 2013)

### 1.3.3. Aspectos fitosanitarios del maíz (*Zea mays*)

El cereal altamente producido y distribuido es el maíz, el cual se encuentra ubicado a nivel mundial en el tercer puesto de producción seguido del trigo y del arroz, siendo los mayores productores el país de Rumania con un aproximado de 9 millones de toneladas diarias, los usos apropiados que generalmente es para la industria alimentaria y para la conversión a combustibles tal como lo hace Brasil. Sin embargo esta especie ha sufrido muchas dolencias en cuanto insectos, virus, ácaros, hongos, etc. entre los más perjudicables se encuentra el género *Fusarium verticillioides*, tal como indica Figueroa et al (2010) que, dentro de las enfermedades que se han manifestado en mayor porcentaje son los fitopatógenos del género *Fusarium*, de modo que se encuentra mayormente en el sustrato y por momentos puede estar ligado a la putrefacciones o marchitez del cultivo.

La mayoría de plagas que se alimentan del maíz, se puede dividir en tres grupos; los que se alimentan desde la parte aérea del follaje, los que atacan por la parte del tallo, y los que finalmente están en el suelo e ingresan por la raíz y causan infección vascular de la planta. Una manera actualmente para contrarrestar enfermedades fitopatógenas es tener información biológica acerca de las plagas y como se introduce en cada proceso de crecimiento.

Por otro lado también el maíz ha presentado en los últimos años graves enfermedades por insectos, tal como menciona García, Gonzales y Cortez (2012); las plagas de insectos más recurrentes a nivel del mundo son; los gusanos cogollero, gusano soldado, gusano elotero, moscas de los estigmas. En el cual para su depredación se utilizan agroquímicos de amplio espectro, donde por ende presentan consecuencias reversibles en los seres vivos y en su medio ecológico tal como; intoxicaciones agudas a los seres humanos.

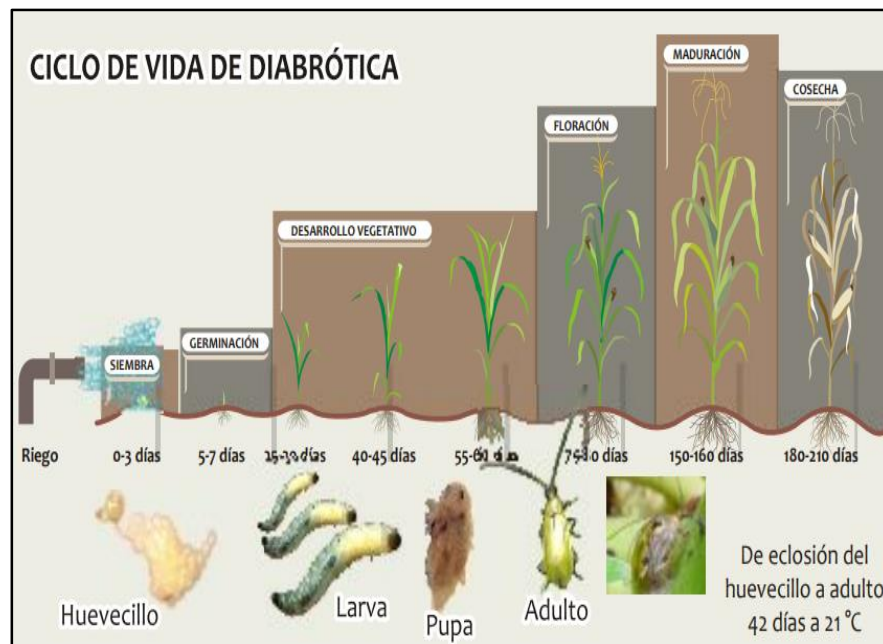


Figura 3. Ingreso de insectos en diversas fases del crecimiento de maíz.

Fuente:(Comité estatal de sanidad vegetal, 2007)

### 1.3.4. Fusarium verticillioides

#### 1.3.4.1. Taxonomía

Según Department of Studies in Microbiology of Mysore (2017) clasifica la taxonomía en:

- Reino: Fungi
- Phylum: Ascomycota
- Clase: Sordariomycetes
- Orden: Hypocreales
- Familia: Nectriaceae

- Género: *Fusarium*
- Especie: *Fusarium verticillioides*
- Sinonimia: *Fusarium moniliforme*

#### **1.3.4.2. Morfología**

Torres *et al* (2014) nos reporta que el *Fusarium verticillioides* es un hongo correspondiente a la subdivisión Deuteromycota, en su estado anamorfo generan abundante microconidias que se desarrollan en cadenas largas, estas son descritas como células ovaladas con la base aplanada y agrupadas en cadenas de esta manera se permite reproducir al hongo para su dispersión; del mismo modo ciertas cepas también generan macroconidias con forma larga y delgada, con cinco o seis septos, mostrando dos células; basal en forma de pie y otra apical en forma de curva. Los conidios se generan con estructuras que aparentan racimos denominadas esporodocios. La especie no desarrolla clamidoconidias, sin embargo las células contenidas en una hifa engrosada son confundidas como tales.

#### **1.3.4.3. Ciclo de vida**

El ciclo de este hongo está compuesto de un estado saprofito y otro parasitario, durante el estado saprofito se alimenta de la materia orgánica muerta produciendo a su vez sustancias tóxicas e infectivas que enferma a la planta, sin embargo el estado parasitario, el hongo obtiene sus nutrientes de las células vegetales seguido de una colonización intracelular por lo que generalmente el hongo avanza con la infección obteniendo nutrientes de tejidos muertos por lo que en general causa marchitez en la planta. Se mantienen en temperatura que van desde 22.58 °C a 27.6 °C, el crecimiento de microconidios se muestran entre el día 3 hasta 28, el desarrollo es vegetativo y reproductivo del hongo (filamentos) entre el día 3 y 18, etapa en la cual presenta la máxima exposición de conidios, hifas, microconidios en cadenas y falsas cabezas. Entre los días 22 y 24 se observa que la colonia ha tomado volumen y expansión.

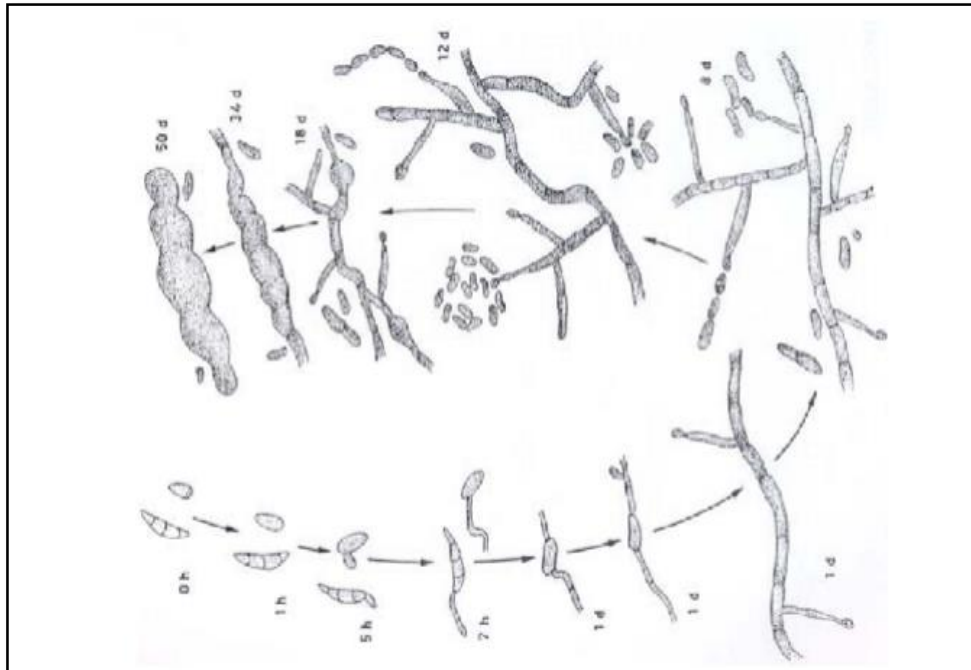


Figura 4. Ciclo vital de la morfogenesis en días de *Fusarium verticillioides*.

Fuente:(Servicio nacional de sanidad, inocuidad y calidad agroalimentaria, 2003)

#### 1.3.4.4. Sintomatología

Este hongo es el principal agente patógeno del maíz y en algunos casos se ha reportado estudios de infección al cultivo de trigo, cebada, sorgo y agave, causando gran pérdidas en su cultivo hasta llegar a un 90% de mortalidad, ataca mediante las orejas del follaje, mazorca y de la raíz, según Peiretti *et al* (2007) El hongo *Fusarium verticillioides* empieza a desarrollarse en la cosecha con la reproducción micelial de color blanquecinos notándose algodonosos, que circulan en la mazorca, dándole una tonalidad rojiza a rosado a los granos infectados, dicho fitopatogeno suele atacar en todos los estados de desarrollo del cultivo de maíz, desde el pre y postcosecha, causando reducción de rendimiento y afectación en la calidad de la semilla .

Hornum, Ridao y Castaño (2013) indican que el hongo infecta tejidos vegetativos y reproductivos, manifestando: marchitez, pudrición de raíces, tallos y espigas de maíz; este patógeno penetra a través de los estigmas, o por heridas de insectos, perjudicando gran totalidad de la planta. La enfermedad es llamada fusariosis, la cual perjudica el rendimiento y la calidad vigorosa de los granos.

#### **1.3.4.5. Rutas de ingreso del *Fusarium verticillioides***

Según Torres et al (2014) informa que el hongo destina diversas rutas de acceso hacia la planta de maíz para colonizar e iniciar su acción parasitaria, de esa manera causa enfermedades a lo largo de su proceso, una de las rutas más aclaradas son mediante:

1. La infección de las plántulas, ocurre desde y durante la germinación de la planta de maíz, ya que el hongo permanece en el suelo o en la semilla, se mantiene posicionado para contaminar a la planta, penetrando directamente el pericarpio (parte exterior del fruto o semilla) y a las células presentes en la piel de la raíz, después del tercer día cuando estas semillas son sembradas con el fitopatógeno presente, comienzan las hifas a colonizar las células del parénquima del escutelo llegando hasta el cortex, sin embargo la colonización de la endodermis y las zonas vasculares ocurren pocas veces. Entre los 25 a 30 días, la planta de maíz comienza a mostrar síntomas de pudrición.
2. La infección de la planta de maíz es mediante el estigma, siendo la vía más común donde el hongo ataca, esto sucede cuando el inocuo aéreo y las conidios son transportados mediante la lluvia se depositada en el estigma de la planta, facilitando el ingreso a la hifa del hongo y las células del pericarpio.
3. La infección del tallo y la mazorca por daño mecánico, se produce con la alimentación de insectos provocando daños en la planta mediante la cual atacara el *Fusarium verticillioides*, por lo que estos insectos actúan como vectores, ya que el hongo perdura en los cuerpos externos como del: gusano barredor, el gusano elotero, los trips y los gorgojos; siendo su función dispersar el hongo en la planta.



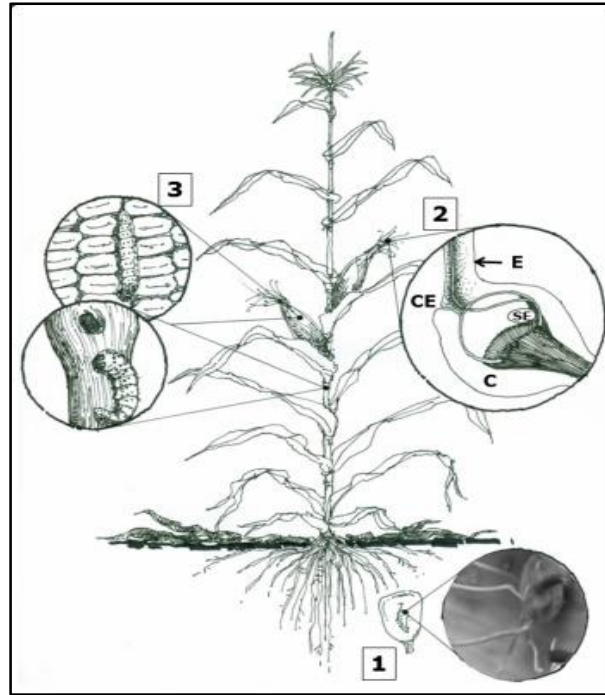


Figura 5. Rutas de ingreso del *Fusarium verticillioides* en el maíz.

Fuente:(De la Torre *et al*, 2014)

#### 1.3.4.6. Acción tóxico – patógena

El *Fusarium verticillioides* llega a generar grandes cantidades de enzimas líticas y toxinas que contribuyen al desarrollo infeccioso del hongo, entre las sustancias más abundantes se encuentra el ácido fusárico, la fusarina C, las naftoquinonas, las fumonisinas y la moniliformina. Solano *et al* (2011) manifiesta que la especie del genero *Fusarium* por ser un saprofito sintetizan metabolitos con componentes altamente toxibiológico, estos metabolitos son pigmentos, micotoxinas e incluso antibióticos en algunas especies, y compuestos con estructura de anillo cuyo actividad biológica no ha sido evaluada.

El *Fusarium veticillioides* tiene la capacidad de producir cantidades de toxinas que ayudan al proceso infeccioso, entre las micotoxinas más conocidas que elabora esta especie son los fumonisinas, este último mencionado es el más perjudicial. Sartori, Nesci y Etcheverry (2015) menciona que una de las toxinas generadas por el hongo, son las fumonisinas b1 y b2 presentando alta toxicidad para el ser humano y animales cuando ingestan estos vegetales infectados; produciendo efectos mutagenicos, teratogenicos y cancerígenos.

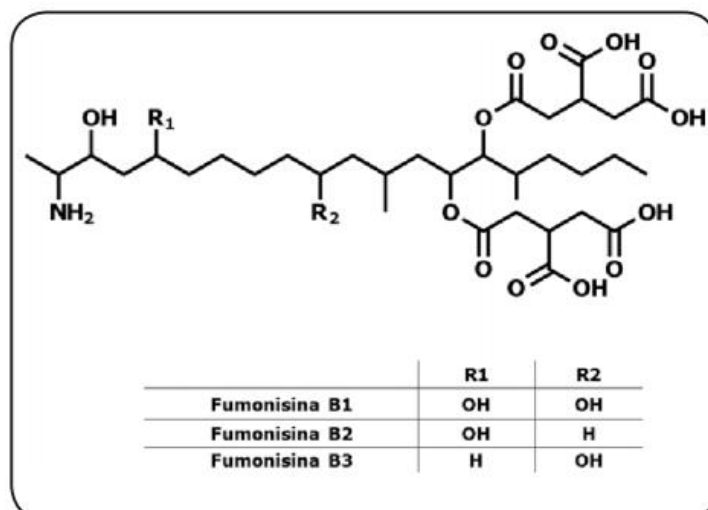


Figura 6. Estructura química de los fumonisinas del grupo B.

**Fuente:**(De la Torre *et al*, 2014)

Chavarrí et al (2007) señala que, el *Fusarium verticillioides* del maíz el cual se debería prestar atención debido a su capacidad toxigena son los más perjudiciales causantes de enfermedades en animales y seres humanos, estudios han determinado en animales presencia de edemas pulmonares y leucoencefalomalacia , y en seres humanos cáncer esofágico así también hepatocarcinoma que conllevan a la muerte, en resumen estos fumonisinas ocasionan no tan solo la muerte a vegetales sino que también colateralmente afecta a los equinos y seres humanos mediante el consumo.

### 1.3.5. Bioensayo

#### 1.3.5.1. Técnica de dilución del extracto en agar

Esta técnica consiste en diluir o “envenenar” el medio de cultivo con las sustancias antifúngicas a estudiar (homogenizar soluciones), este ensayo se ha llevado a pruebas en muchas investigaciones, sobre todo para medir la inhibición porcentual en el crecimiento del hongo filamentoso o sensibilidad frente a componentes químicos, Según Gómez, Aracil y Gil (2009) nos revelan que el método de dilución en agar es el ensayo más óptimo cuando se quiere controlar de modo *in vitro* a microorganismos infecciosos.

### 1.3.5.2. Evaluación de la inhibición del crecimiento micelial

La prueba de la inhibición del crecimiento micelial se basa en analizar que tanto la sustancia evita la formación de micelios (aparato vegetativo del hongo) el cual está constituida de hifas formadores de conidios(esporas asexuales) por lo que general se le conoce como la fase reproductiva del hongos, se emplea en experimentos de laboratorio mediante una prueba testigo y otra en tratamiento a diferentes fármacos y dosis con la finalidad de conocer el efecto antifúngico, según Iglesias *et al* (2017); nos plantea la siguiente ecuación para calcular el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial :

$$\%ICM = \frac{CTT - CTE}{CTT} * 100$$

En donde:

%ICM: porcentaje de inhibición del crecimiento micelial

CTT: crecimiento micelial en el tratamiento testigo

CTE: crecimiento micelial en el tratamiento evaluado

Dichos resultados tienen una ponderación del 0 al 4 tal como plantea Moron (2017):

0= sin crecimiento visible (100% de inhibición del crecimiento micelial)

1= escaso crecimiento (75% de inhibición del crecimiento micelial)

2= crecimiento moderado (50% de inhibición del crecimiento micelial)

3= crecimiento abundante (25% de inhibición del crecimiento micelial)

4= crecimiento similar del testigo (0% de inhibición del crecimiento micelial)

## 1.4. Formulación del problema

### Problema general

- ¿Los extractos etanólicos de vegetales tienen eficiencia para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima-2019?

### Problemas específicos

- ¿El extracto etanólico de ajos (*Allium sativum*) tiene eficiencia para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima-2019?
- ¿El extracto etanólico de cebolla (*Allium cepa*) tiene eficiencia para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima-2019?
- ¿El extracto etanólico de kion (*Zingiber officinale*) tiene eficiencia para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima-2019?

## 1.5. Justificación

El presente investigación tiene la finalidad de contribuir con los avances científicos y solidificar los conocimientos del receptor para la aplicación de esta propuesta innovadora, en el que se busca controlar las enfermedades fitopatógenas y a su vez frenar el uso de agroquímicos que actualmente dependen de ellas para su tratamiento fitosanitarios, que sin bien es cierto causan grandes desequilibrios ecológicos así como toxicidad frente a la salud humana.

Los vegetales a investigar presentan propiedades antifúngicas que pueden ser empleadas y aprovechadas para la inhibición del desarrollo de plagas que afectan a cultivos convencionales e industriales que actualmente presentan graves pérdidas financieras en grandes cultivos, Tal como indica Vidal *et al* (2014) que; las daños generados por infecciones fitopatógenas en el rendimiento de todos los cultivos a escala mundial se valoran en 35%, anualmente se aplican en los cultivos 2.5 millones de toneladas de agroquímicos a nivel mundial.

Bravo *et al* (2013) nos menciona que; los plaguicidas químicos fueron y son las alternativas más eficaces para los cultivos con defectuosos grados fitosanitarios, que impiden el desarrollo de los productos vegetales alimentarios, sin embargo, estos químicos requieren de una alta inversión capital y su uso presenta riesgos a corto y largo plazo para la salud humana y de la biota en general. Entonces es de suma importancia que se realice la presente investigación para encontrar alternativas de control de enfermedades fitopatógenas, se busca a través del estudio que esta innovación sea eficaz, de bajo costo, accesible y armonioso con el medio ambiente considerando que el Perú es uno de los países con mayor riqueza vegetal. Esta investigación ecológica tienen como objetivo evaluar la eficiencia de los extractos etanólicos de vegetales, en la cual este aporte tiene la finalidad de beneficiar agricultores y grandes empresarios en la toma de decisiones en cuanto al uso de tratamientos fitosanitarios de origen vegetal en el ámbito agronómico, así como en el avance científico, y sobre todo manteniendo el equilibrio sostenible que permitirán beneficiar a nuestras futuras generaciones.

## 1.6. Hipótesis

### Hipótesis General

- Los extractos etanólicos de vegetales tienen eficiencia significativa para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima-2019.

### Hipótesis específicos

- El extracto etanólico de ajos (*Allium sativum*) tiene eficiencia significativa para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima-2019.
- El extracto etanólico de cebolla (*Allium cepa*) tiene eficiencia significativa para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima-2019.
- El extracto etanólico de kion (*Zingiber officinale*) tiene eficiencia significativa para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima-2019.

## 1.7. Objetivos

### Objetivo general

- Evaluar la eficiencia de los extractos etanólicos de vegetales para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima-2019.

### Objetivos Específicos

- Determinar la eficiencia del extracto etanólico de ajos (*Allium sativum*) para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima-2019.
- Determinar la eficiencia del extracto etanólico de cebolla (*Allium cepa*) para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima-2019.
- Determinar la eficiencia del extracto etanólico de kion (*Zingiber officinale*) para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima-2019.

## II. MÉTODO

### 2.1. Tipo, Nivel y Diseño de Investigación

#### 2.1.1. Tipo de investigación

Este proyecto de investigación es de tipo aplicada, ya que tiene un enfoque realista debido que pueden ser aplicados en ámbitos fitosanitarios, donde pueden aportar hechos nuevos con resultados beneficiosos. Baena (2014) indica que las informaciones de la investigación aplicada pueden destinar a resolver problemas o necesidades que presenta una sociedad.

#### 2.1.2. Nivel de investigación

La investigación tiene un nivel explicativo ya que busca encontrar y explicar las razones que ocasionan estos fenómenos planteados en el estudio. Behar (2008) nos informa que el objetivo de dicho estudio es explicar por qué suceden los fenómenos y en qué grado se encuentran, en la cual están sujetos hacia la comprobación de hipótesis causales (variable independiente) sobre resultados en hechos verificables o comprobables (variable dependiente). Así mismo señala que este nivel implica esfuerzo por parte de los investigadores y una gran capacidad de análisis e interpretación.

#### 2.1.3. Diseño de investigación

El diseño empleado en el estudio es de tipo experimental debido que los investigadores manipularemos la variable independiente con el fin examinar los efectos o controlar la variable dependiente y observar cómo interactúan entre ellas.

El experimento fue *in vitro*, se prepararon 3 tipos de extractos etanólicos de vegetales (*Allium sativum*, *Zingiber officinale* y *Allium cepa*) en diferentes dosificaciones, tomando en cuenta la prueba piloto donde se evaluaron los extractos a mismas dosis (5% V/v, 10% V/v, 15% V/v, 20 y 25% V/v) con el objetivo de aproximar la dosis exacta de control antifúngico, como resultados para determinar la eficiencia del estudio se establece que;

Extracto etanólico del *Allium sativum*: (11% V/v, 12% V/v, 13% V/v, 14% V/v y 15% V/v)

Extracto etanólico del *Allium cepa*: (6% V/v, 7% V/v, 8% V/v, 9% V/v y 10% V/v)

Extracto etanólico del *Zingiber officinale*: (6% V/v, 7% V/v, 8% V/v, 9% V/v y 10% V/v)

Dichos resultados en unidades milimétricas del crecimiento micelial fueron medidos al día 1, 3 y 5.

Para los experimentos se utilizó ANOVA con dos factores con 5 repeticiones, según Montgomery (2013) este diseño también conocido como diseño factorial de 2 factores es el más aplicado en cuanto los diseños experimentales a nivel laboratorio, donde estudia los efectos de dos factores en los diferentes tratamientos o niveles asignados, tal que una análisis de su interacción entre ellos permitirá resolver los problemas planteados de la investigación.

**Tabla 2.** Tabla de ingreso de resultados para pruebas de inhibición del crecimiento micelial

Extracto etanólico de vegetal 1			
Dosis	Días		
	1	3	5
1% (v/v)	X <sub>1...X5</sub>	Y <sub>1...Y5</sub>	Z <sub>1...Z5</sub>
2% (v/v)	...	...	...
3% (v/v)	...	...	...
4% (v/v)	...	...	...
5%(v/v)	...	...	...

**Fuente:** Elaboración propia

## 2.2. Variables, Operacionalización

### Variables:

- Variable independiente: Eficiencia de extractos etanólicos de vegetales
- Variable dependiente: Control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*)



### 2.2.1. Matriz de operacionalización de las variables

**Tabla 3.** Matriz de operacionalización de variables

MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES				
“Eficiencia de extractos etanólicos de vegetales para el control <i>in vitro</i> del hongo fitopatógeno ( <i>Fusarium verticillioides</i> ), Lima - 2019”				
Variables	Definición Conceptual	Definición Operativa	Dimensiones	Indicadores
Variable independiente: Eficiencia de Extractos etanólicos de vegetales	Fidias (2017); el termino eficiencia en investigaciones se conceptualiza como el logro del objetivo deseado con menor cantidad de recursos e inversión de tiempo. Según Iturbide et al (2017) Los extractos etanólicos de vegetales son sustancias obtenidas por extracciones de vegetales mediante un proceso químico simple usando como solvente el etanol, en donde dan la apertura a un modo de biocontrol de fitopatógenos en la agricultura intensiva	Se realizó las mediciones mediante una ficha técnica de observación para las pruebas, teniendo en cuenta los tipos de extractos etanólicos de vegetales, dosificación y tiempo.	Extractos etanólicos de vegetales	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Allium sativum</i></li> <li>• <i>Allium cepa</i></li> <li>• <i>Zingiber officinale</i></li> </ul>
			Dosis	<ul style="list-style-type: none"> <li>• % 6 (V/v) – 15% (V/v)</li> </ul>
			Tiempo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Día 1 – Día 3 – Día 5</li> </ul>
Variable dependiente: Control del hongo fitopatógeno ( <i>Fusarium verticillioides</i> )	Según Gonzáles et al (2015), el género fitopatógeno <i>Fusarium</i> es controlado de modo <i>in vitro</i> por el bioensayo de dilución del extracto en agar o también conocida como técnica del medio envenenado, debido que estas pruebas evalúan la inhibición del crecimiento micelial, de esporulación y germinación de conidios.	El <i>Fusarium verticillioides</i> es controlado en medios de cultivos de APD P diluidos con las diferentes dosificaciones antifungicas, en donde los resultados fueron medidos en relación a las pruebas testigos (medios sin tratamientos) para obtener dichos resultados en porcentajes de inhibición del crecimiento micelial por medio de una ecuación.	Inhibición del crecimiento micelial	%ICM (porcentaje de inhibición del crecimiento micelial)

## **2.3. Población y muestra**

### **2.3.1. Población**

Todas las cepas del hongo fitopatógeno *Fusarium verticillioides* cultivadas a partir de un maíz infectado.

### **2.3.2. Muestra**

10 µL de una suspensión *Fusarium verticillioides* ajustados a una transmitancia (T) de 50% a 530 nm equivalente a 1 a  $5 \times 10^4$  UFC

### **Criterios de selección**

Criterios de inclusión:

- Cultivos de *Fusarium verticillioides* de contenido puro y viable.
- Cultivo fúngico con Agar papa dextrosa en óptimas condiciones.

Criterios de exclusión:

- Cultivos de *Fusarium verticillioides* contaminados.
- Cajas Petri de cultivo de *Fusarium verticillioides* fracturados.

### **Número de réplicas**

Se trabajó con 5 réplicas para cada tratamiento, comprobando de esa forma la inhibición del crecimiento micelial en los medios de cultivos PDA (Rodríguez, 2012)

## **2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad**

### **2.4.1. Técnicas**

La técnica que se empleo fue de observación experimental

### **2.4.2. Instrumentos**

El instrumento a utilizar para medir el crecimiento micelial del hongo fue un Pie de rey digital milimétrico marca UBERMANN con rango de medida de 0 a 150 milímetros.

### **2.4.3. Validez**

Para este ítem la validez se basó en la descripción teórica experimental de expertos que en investigaciones micológicas similares hacen referencia la utilización del instrumento al momento de obtener datos de medición de los halos de inhibición así como el crecimiento micelial del hongo, mediante el instrumento llamado Pie de Rey o vernier. A continuación se describirá algunos investigadores:

López *et al* (2013) en su estudio donde evalúa la actividad anti fúngica del quitosano en *Alternaria alternata* menciona que para medir el crecimiento micelial del hongo utilizaron el vernier, obteniendo valores en milímetros.

Berumen *et al* (2015) en su investigación para determinar el efecto del ácido salicílico en la resistencia del fitopatógeno *Colletotrichum* sp utilizaron como instrumento un vernier digital para medir el diámetro de crecimiento micelial.

Cáceres *et al* (2013) en su evaluación de la actividad antifúngica in vitro de extractos acuosos contra especies de *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma* spp, *Penicillium digitatum* y *Aspergillus niger* se midió el crecimiento de las colonias en dos diámetros con un vernier para lograr calcular el promedio del crecimiento de micelios.

### **2.4.4. Confiabilidad**

Para la confiabilidad del instrumento, el Pie de rey digital marca UBERMANN fue calibrado en el laboratorio de METROIL (Metrología e ingeniería) que actualmente cuenta con la acreditación por el organismo peruano INACAL bajo la norma ISO 17025 y la certificación según SGS bajo la ISO 9001 en gestión de la calidad. (Ver anexo N°2)

## **2.5. Descripción del procedimiento para recolección de datos**

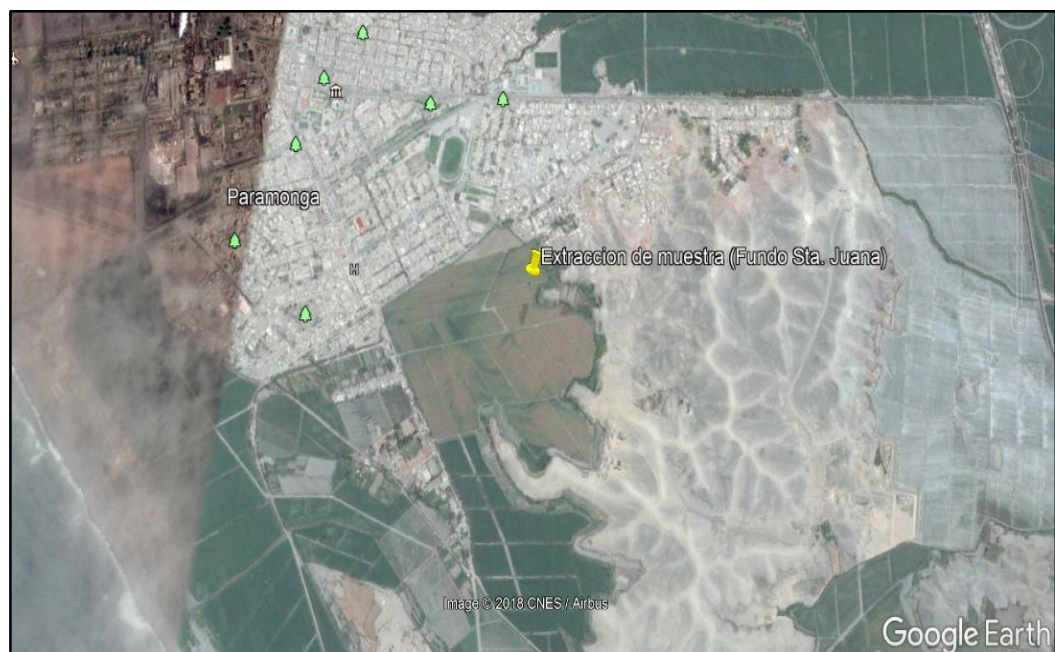
### **2.5.1. Obtención de muestras infectadas por hongos *Fusarium verticillioides* del maíz en el huerto Santa Juana.**

Se procedió como primer paso observar las vegetaciones que posiblemente cumplan las características de infección por *Fusarium verticillioides* (marchitez o pudrición) en el huerto

Santa Juana, una vez identificado se extrajo diferentes muestras de maíz infectadas ya sean en la parte del follaje, tallo, raíz o vegetal (maíz), en donde se colocaron en un cooler para mantener ciertas condiciones ambientales del hongo, para este proceso se utilizó la mayor asepsia posible, además de usar guantes estériles, mandil blanco, tapaboca desechable, alcohol, lupa, cámara fotográfica (móvil) y una libreta de campo, donde posteriormente fueron trasladados al laboratorio de Fitopatología de la Universidad Agraria la Molina para sus respectivas evaluaciones.

### **Zona de extracción de muestras infectadas**

Las muestras de maíz infectado fueron recolectadas en el huerto Santa Juana ubicada en el Distrito de Paramonga, provincia de Barranca, del departamento de Lima, con coordenadas 10°40'47.37"Sur 77°48'36.47"Oeste.



*Figura 7.* Localización geográfica de zona de extracción de muestras infectadas (Fundo Sta. Juana)

**Fuente:** (Google Earth, 2014)

### **2.5.1.1. Aislamiento e identificación del hongo *Fusarium verticillioides***

Una vez que se extrajeron las muestras infectadas por el *Fusarium verticillioides*, se cortaron tejidos contaminados logrando obtener 2 a 3 piezas de 1 cm<sup>2</sup> de área, seguidamente se desinfectó mediante la técnica de inmersión por hipoclorito de sodio al 1.5 % durante 1 minuto, donde luego se enjuagó 3 veces con agua destilada. Por otro lado se procedió a preparar el medio de cultivo con Agar papa dextrosa peptona (ver anexo N°3), en el que se colocó las partes de los tejidos recortados, se utilizó este medio nutritivo ya que es conveniente para valorar el aspecto morfológico de la colonia, debido a su alto contenido en carbohidratos hace que logre un mejor desarrollo (Marquez, De la Rosa y Mercado, 2007), fueron sellados con cinta parafilm para evitar que se contaminen, luego se sometieron a la incubadora a temperaturas de 26 ±2°C por 7 días. Para su posterior identificación de género y especie se contó con el apoyo de un especialista en Fitopatología y Nematología de la SENASA.

### **2.5.1.2. Preparación de inóculo de hifas y conidios**

Las colonias de hongos obtenidos a partir del maíz infectado fueron cultivados en cajas petris con Agar papa dextrosa peptona (APD P) a 26 ±2 °C por 7 días, después de su desarrollo las colonias en las cajas petris son cubiertas con 10 mL de solución salina estéril al 0.85%, se agitó por dos minutos y mediante un asa de siembra estéril se frotó la superficie de la colonia de hongos, esta suspensión fue transferido hacia un tubo Falcon mediante una pipeta y se dejó sedimentar durante 20 minutos (Fernández, 2005), después de este proceso los inóculos se ajustaron a una transmitancia (T) de 50% a 530 nm con la solución salina. Por otro lado, Cermeño y Torres (1998) en sus diversos ensayos con hongos miceliares nos revela que utilizando esa longitud de onda (530 nm) a 40-50 % de transmitancia, se permite conseguir una suspensión celular promedio de 1 a 5x10<sup>6</sup> UFC/mL.

### **2.5.1.3. Preparación y obtención de extractos etanólicos de vegetales**

Para la preparación de extractos etanólicos se utilizó los bulbos de ajos (*Allium sativum*), Cebolla (*Allium cepa*) y del jengibre (*Zingiber officinale*), para los tres vegetales se empleó el mismo procedimiento tal como Cerqueira *et al* (2016) realiza en su investigación para controlar a una especie del género *Fusarium*;

**Paso 1.** Se pesó y peló 3 kg de cada vegetal, fueron desinfectados con hipoclorito de sodio al 1%, luego fueron lavados 3 veces con abundante agua destilada, una vez secados fueron triturados en una licuadora Oster<sup>MR</sup>.

**Paso 2.** Se maceró cada proporción del vegetal molido con 3 L. de etanol al 96% durante 15 días sobre un recipiente de vidrio color ámbar sin cámara de oxígeno.

**Paso 3.** Se extrajo solo el extracto crudo de cada vegetal macerado, para eso se tuvo que evaporar el solvente a 50°C con una presión de 180 mbar mediante el Rotavapor marca Boeco Germany instalado en el laboratorio de Biotecnología de la Universidad Cesar Vallejo.

**Paso 4.** Se colocó cada extracto puro en recipientes de color ámbar esterilizado donde fueron refrigerados (4°C) para su dosificación y posterior uso en las pruebas.

#### **2.5.1.4. Preparación de dosificaciones de los extractos etanólicos de vegetales**

Para evaluar la eficacia de los extractos etanólicos de vegetales como anti fúngicos se prepararon 5 dosis para cada uno; (6%, 7%, 8%, 9% y 10%) para los extractos etanolicos del *Zingiber officinale* y *Allium Cepa*, y (11%,12%,13%,14% y 15%) para el extracto etanólico *Allium sativum*, luego fueron diluidos con PDAP para sus respectivas evaluaciones.

En donde para preparar el 10 % de dosis para un extracto se tiene que tener en cuenta que cada caja Petri esta aforada para 15 ml de PDAP, entonces:

$$\frac{10 * 15}{100} = 1.5 \text{ ml de extracto}$$

Por lo tanto, se le resto 1.5 ml de extracto, logrando homogenizar 13.5 ml de PDAP + 1.5 ml de extracto. De igual manera se aplicó esta técnica de dosificación para el experimento piloto.

## **2.5.2. Evaluación de control del hongo**

### **2.5.2.1. Evaluación de la inhibición porcentual del crecimiento micelial**

Para esta prueba se tuvo que homogenizar en las cajas petris 15 ml de Agar papa dextrosa peptona (APD P) con cada extracto vegetal etanólico en diferentes dosis, (6%, 7%, 8%, 9% y 10%) para los extractos etanolicos del *Zingiber officinale* y *Allium Cepa*, y (11%,12%,13%,14% y 15%) para el extracto etanólico *Allium sativum*, debido que se tomó referencia de la prueba piloto. Una vez terminado de solidificarse se aplica mediante una microjeringa 10 µL de una suspensión *Fusarium verticillioide*, luego se incubaron a una temperatura de  $26 \pm 2$  °C, se procedió a realizar las medidas respectivas en mm después de la incubación, para los resultados sometimos a una ecuación en el que nos resultó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial con respecto al control sin tratamiento.

$$\%ICM = \frac{CTT - CTE}{CTT} * 100$$

En donde %ICM: porcentaje de inhibición del crecimiento micelial, CTT: crecimiento micelial en el tratamiento testigo, CTE: crecimiento micelial en el tratamiento evaluado.

### **2.5.2.2. Experimento piloto**

Se realizó un experimento piloto con la finalidad de garantizar resultados eficientes al momento de controlar al hongo *Fusarium verticillioides*, para esta pre-prueba se tuvo en cuenta que los tres extractos etanólicos se sometieran al control con las mismas dosis (5%, 10%, 15%, 20% y 25%), lo cual solo basto en analizar 3 días y medir su crecimiento radial del hongo bajo pruebas testigos, además por cada extracto y dosis se trabajó con 3 repeticiones donde las unidad de medida fueron en milímetros.

## **2.6. Método de análisis de datos**

Los resultados fueron registrados en una ficha técnica de observación mediante un diseño propio en donde se tomó datos de los tres extractos vegetales y dosis, con cada una de las repeticiones sobre las cajas petris ensayadas.

Luego los datos fueron transferidos en Excel para su orden correspondiente, estos se procesaron en el programa estadístico MINITAB 2017, donde se realizaron gráficos de barras, interacciones y las respectivas pruebas estadísticas.

Se realizó la prueba de análisis de varianza (ANOVA) de dos factores con un nivel de significancia de  $\alpha= 0.05$ ; además este análisis fue complementada con la prueba de Tukey con el objetivo de comparar las medias de los resultados en la evaluación (inhibición del crecimiento micelial).

## **2.7. Aspectos éticos**

Esta investigación tuvo la supervisión de diferentes expertos en la materia, siguiendo las recomendaciones del Manual de bioseguridad en el laboratorio emitido en el año 2005 por la Organización Mundial de la Salud.

Los procedimientos para realizar las pruebas de sensibilidad antifúngica estarán sujetas al Manual de Procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión (series de normas técnicas N°30) emitido en el año 2002 por el Ministerio de Salud.



### III. RESULTADOS

**Tabla 4.** Eficiencia del extracto etanólico *Allium sativum* para el control in vitro del hongo fitopatógeno *Fusarium verticillioides*

N° de repeticiones	Testigo			Dosificaciones de extracto etanólico del <i>Allium sativum</i>														
				11%			12%			13%			14%			15%		
	Día 1	Día 3	Día 5	Día 1	Día 3	Día 5	Día 1	Día 3	Día 5	Día 1	Día 3	Día 5	Día 1	Día 3	Día 5	Día 1	Día 3	Día 5
	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm
				%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
1	39.15	63.08	85	0	13.41	26.32	0	12.1	19.94	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				<b>100</b>	<b>78.7</b>	<b>69.04</b>	<b>100</b>	<b>80.81</b>	<b>76.54</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
2	43.08	75.9	83.11	0	9.89	15.84	0	8.36	10.16	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				<b>100</b>	<b>86.9</b>	<b>81.11</b>	<b>100</b>	<b>88.98</b>	<b>87.16</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
3	34.38	63.45	84.11	0	8.82	13.56	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				<b>100</b>	<b>86.09</b>	<b>83.88</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
4	31.84	57.97	85	0	15.08	31.03	0	0	13.28	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				<b>100</b>	<b>78.29</b>	<b>63.49</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>84.37</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
5	14.06	39.37	78.68	0	10.66	13.58	0	0	9.12	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				<b>100</b>	<b>72.92</b>	<b>82.74</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>88.4</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

### Interpretación:

El extracto etanólico del *Allium sativum* tuvo eficiencia significativa a partir del 13% de dosis, logrando inhibir hasta en un 100% en el crecimiento micelial del hongo fitopatógeno a partir día 1 de incubación, además se puede visualizar en la tabla que la menor inhibición en el crecimiento micelial es de 76.05 % (promedio) con la dosis al 11 % en el día 5, por otro lado también se muestran en la tabla los diámetros de crecimientos miceliares en unidades milimétricas (Mm), en el que guardan relación con los datos porcentuales mediante la transformación en la ecuación.

**Tabla 5.** ANOVA del extracto etanólico de *Allium sativum* para la inhibición porcentual del crecimiento micelial del *Fusarium verticillioides*

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Fuente	GL	SC Ajust	MC Ajust	Valor F	Valor p
Dosis	4	2434.3	608.58	34.11	0.000
Tiempo	2	705.7	352.85	19.78	0.000
Dosis * Tiempo	8	1316.8	164.60	9.23	0.000
Error	60	1070.4	17.84		
Total	74	5527.2			

### Interpretación:

La dosis presenta un  $p=0.000$  lo que se deduce que es altamente significativa, con lo cual podemos inferir que las diferentes dosis del extracto etanólico del *Allium sativum* presentan efectos significativos sobre la inhibición del crecimiento micelial del *Fusarium verticillioides*, al igual que el tiempo y las interacciones entre Dosis\*Tiempo. Además se rechaza la  $H_0$  y se acepta la hipótesis planteada por los investigadores, debido que ( $p$ -valor $<0.05$ ).

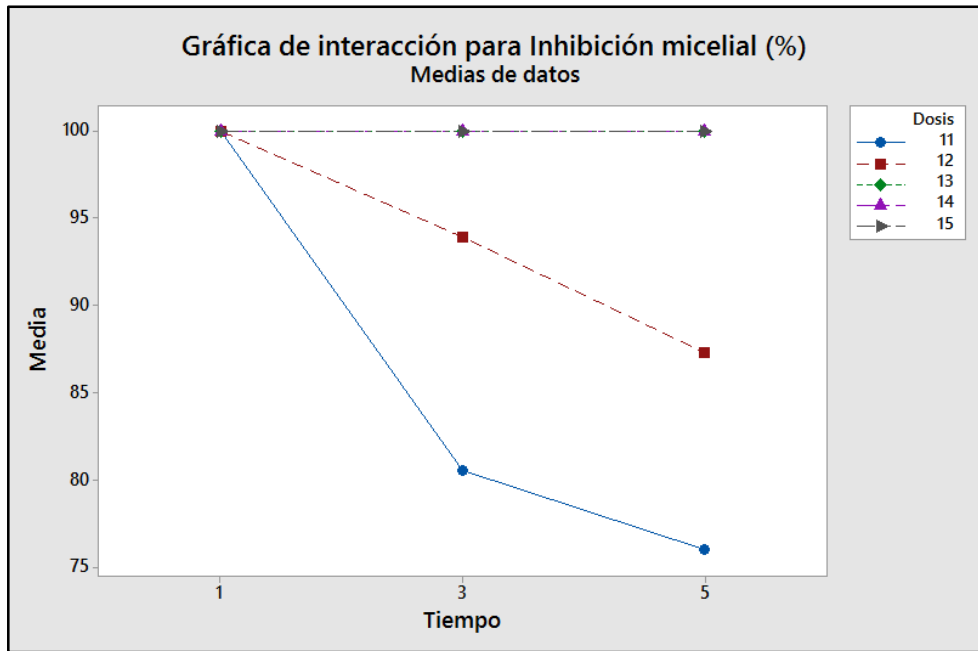


Figura 8. Gráfica de comparaciones de medias de la inhibición porcentual del crecimiento micelial del *Fusarium verticillioides* en los diferentes tiempos y dosis del extracto etanolico *Allium sativum*

**Interpretación:**

En las comparaciones de medias podemos evidenciar que las dosis que comienzan a reducir la inhibición porcentual del crecimiento micelial en sus respectivos días de medición son al 11% (100 - 80.58 - 76.05) y 12% (100 - 93.96 - 87.29), lo que es probable que el fitopatógeno haya presentado resistencia ante los fúngicos, pero todo lo contrario para las dosis al 13%, 14% y 15% ya que mostraron resultados óptimos al punto de alcanzar en sus 3 días de mediciones un 100% de inhibición porcentual del crecimiento micelial.

**Tabla 6.** Eficiencia del extracto etanólico *Allium cepa* para el control in vitro del hongo fitopatógeno *Fusarium verticillioides*.

N° de repeticiones	Testigo			Dosificaciones de extracto etanólico del <i>Allium cepa</i>														
				6%			7%			8%			9%			10%		
	Día 1	Día 3	Día 5	Día 1	Día 3	Día 5	Día 1	Día 3	Día 5	Día 1	Día 3	Día 5	Día 1	Día 3	Día 5	Día 1	Día 3	Día 5
	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm
				%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
1	39.15	63.08	85	11.8	26.82	40.46	4.83	13.84	19.23	8.71	17.3	23.96	0	11.84	14.47	0	0	0
				<b>69.85</b>	<b>57.48</b>	<b>52.4</b>	<b>87.66</b>	<b>78.05</b>	<b>77.37</b>	<b>77.75</b>	<b>72.57</b>	<b>71.81</b>	<b>100</b>	<b>81.23</b>	<b>82.97</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
2	43.08	75.9	83.11	10.38	19.1	37.96	0	10.34	13.08	0	0	0	0	12.2	14.45	0	0	0
				<b>75.9</b>	<b>74.84</b>	<b>54.73</b>	<b>100</b>	<b>86.37</b>	<b>84.4</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>83.92</b>	<b>83.76</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
3	34.38	63.45	84.11	11.41	22.18	28.13	0	9.99	15.16	10.7	20.11	28.86	0	0	0	0	0	0
				<b>66.81</b>	<b>65.04</b>	<b>66.55</b>	<b>100</b>	<b>84.25</b>	<b>81.79</b>	<b>68.87</b>	<b>68.3</b>	<b>65.68</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
4	31.84	57.97	85	9.55	36.97	51.37	0	13.39	17.5	6.84	15.33	22.23	0	0	10.11	0	0	0
				<b>70</b>	<b>46.79</b>	<b>39.56</b>	<b>100</b>	<b>80.72</b>	<b>79.41</b>	<b>78.52</b>	<b>77.93</b>	<b>73.84</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>88.1</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
5	14.06	39.37	78.68	6.8	20	54.76	10.34	31.57	63.64	3.92	16.95	38.11	0	0	0	0	0	0
				<b>51.63</b>	<b>49.2</b>	<b>30.4</b>	<b>26.45</b>	<b>19.81</b>	<b>19.12</b>	<b>72.12</b>	<b>56.95</b>	<b>51.56</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

### Interpretación:

El extracto etanólico del *Allium cepa* tuvo eficiencia a partir del 10% de dosis, logrando inhibir hasta en un 100% en el crecimiento micelial del hongo fitopatógeno a partir del día 1, además se puede visualizar en la tabla que la menor inhibición en el crecimiento micelial es de 48.72% (promedio) con la dosis al 6 % en el día 5, por otro lado también se muestran en la tabla los diámetros de crecimientos miceliares en unidades milimétricas (Mm), en el que guardan relación con los datos porcentuales mediante la transformación en la ecuación.

**Tabla 7.** ANOVA del extracto etanólico de *Allium cepa* para la inhibición porcentual del crecimiento micelial del *Fusarium verticillioides*

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Fuente	GL	SC Ajust	MC Ajust	Valor F	Valor p
Dosis	4	17259.9	4314.98	16.71	0.000
Tiempo	2	1224.4	612.18	2.37	0.102
Dosis * Tiempo	8	578.6	72.32	0.28	0.970
Error	60	15496.1	258.27		
Total	74	34558.9			

### Interpretación:

La dosis presenta un  $p=0.000$  lo que se deduce que es altamente significativa, con lo cual podemos inferir que las diferentes dosis del extracto etanólico del *Zingiber officinale* presentan efectos significativos sobre la inhibición del crecimiento micelial del *Fusarium verticillioides*, por otro lado se evidencia que el tiempo presentó un  $p=0.102$  lo que explica que este factor no influye en los resultados de inhibición porcentual del crecimiento micelial, de la misma forma para las interacciones entre dosis\*tiempo que presentó un  $p=0.970$  donde infiere no tener diferencias significativas en sus datos.

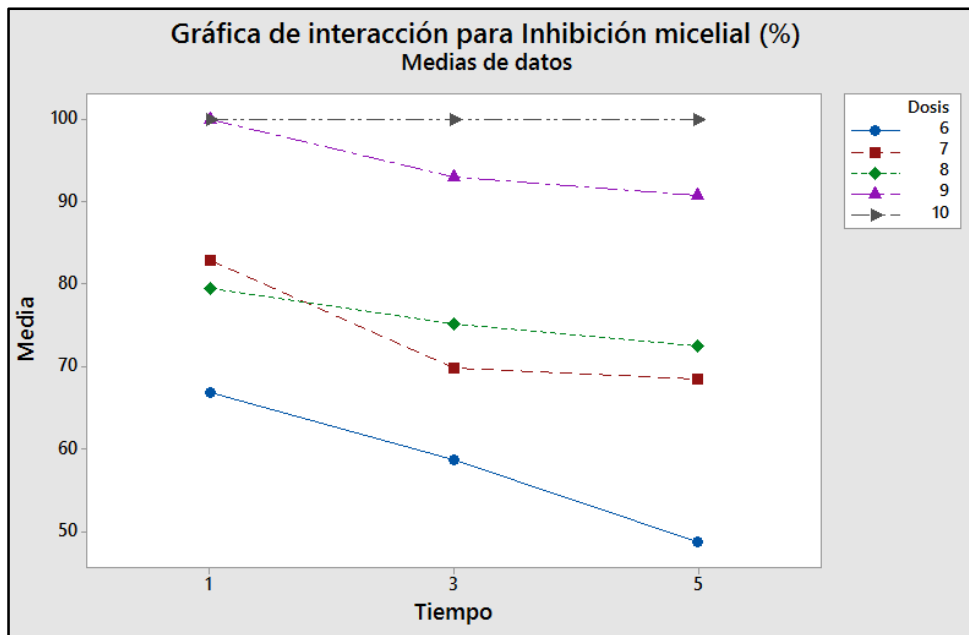


Figura 9. Gráfica de comparaciones de medias de la inhibición porcentual del crecimiento micelial del *Fusarium verticillioides* en los diferentes tiempos y dosis del extracto etanólico *Allium cepa*

### Interpretación:

En las comparaciones de medias podemos evidenciar que la dosis que comienzan a reducir la inhibición porcentual del crecimiento micelial en sus respectivos días de medición son al 6% (66.84 - 58.67 - 48.73), 7% (82.82 - 69.84 - 68.45), 8% (79.45 - 75.15 - 72.58), 9% (100 - 93.03 - 90.77), lo que es probable que el fitopatógeno haya presentado resistencia ante los fúngicos, pero todo lo contrario para la dosis al 10% que mostró resultados óptimos al punto de alcanzar en sus 3 días de mediciones un 100% de inhibición porcentual del crecimiento micelial.

**Tabla 8.** Eficiencia del extracto etanólico *Zingiber officinale* para el control in vitro del hongo fitopatógeno *Fusarium verticillioides*

N° de repeticiones	Testigo			Dosificaciones de extracto etanólico del <i>Zingiber officinale</i>														
				6%			7%			8%			9%			10%		
	Día 1	Día 3	Día 5	Día 1	Día 3	Día 5	Día 1	Día 3	Día 5	Día 1	Día 3	Día 5	Día 1	Día 3	Día 5	Día 1	Día 3	Día 5
	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm
				%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
<b>1</b>	39.15	63.08	85	0	11.78	14.94	0	0	11.85	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				<b>100</b>	<b>81.32</b>	<b>82.42</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>86.05</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>2</b>	43.08	75.9	83.11	0	14.23	23.16	0	0	10.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				<b>100</b>	<b>81.25</b>	<b>72.38</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>87.35</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>3</b>	34.38	63.45	84.11	0	11.19	16.95	0	0	10.39	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				<b>100</b>	<b>82.36</b>	<b>79.85</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>87.64</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>4</b>	31.84	57.97	85	0	19.52	23.44	0	0	9.61	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				<b>100</b>	<b>71.61</b>	<b>72.42</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>88.69</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>5</b>	14.06	39.37	78.68	0	12.04	17.43	0	0	14.17	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				<b>100</b>	<b>69.41</b>	<b>77.85</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>81.99</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

### Interpretación:

El extracto etanólico del *Zingiber officinale* tuvo eficiencia significativa a partir del 8% de dosis, logrando inhibir hasta en un 100% en el crecimiento micelial del hongo fitopatógeno a partir del día 1 de incubación, además se puede visualizar en la tabla que la menor inhibición en el crecimiento micelial es de 76.98% (promedio) con la dosis al 6 % en el día 5, por otro lado también se muestran en la tabla los diámetros de crecimientos miceliales en unidades milimétricas (Mm), en el que guardan relación con los datos porcentuales mediante la transformación en la ecuación.

**Tabla 9.** ANOVA del extracto etanólico de *Zingiber officinale* para la inhibición porcentual del crecimiento micelial del *Fusarium verticillioides*

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Fuente	GL	SC Ajust	MC Ajust	Valor F	Valor p
Dosis	4	2631.5	657.870	151.98	0.000
Tiempo	2	685.8	342.881	79.21	0.000
Dosis * Tiempo	8	1686.0	210.748	48.69	0.000
Error	60	259.7	4.329		
Total	74	5262.9			

### Interpretación:

La dosis presenta un  $p=0.000$  lo que se deduce que es altamente significativa, con lo cual podemos inferir que las diferentes dosis del extracto etanólico del *Zingiber officinale* presentan efectos significativos sobre la inhibición del crecimiento micelial del *Fusarium verticillioides*, al igual que el tiempo y las interacciones entre Dosis\*Tiempo. Además se rechaza la  $H_0$  y se acepta la hipótesis planteada por los investigadores, debido que ( $p$ -valor $<0.05$ ).



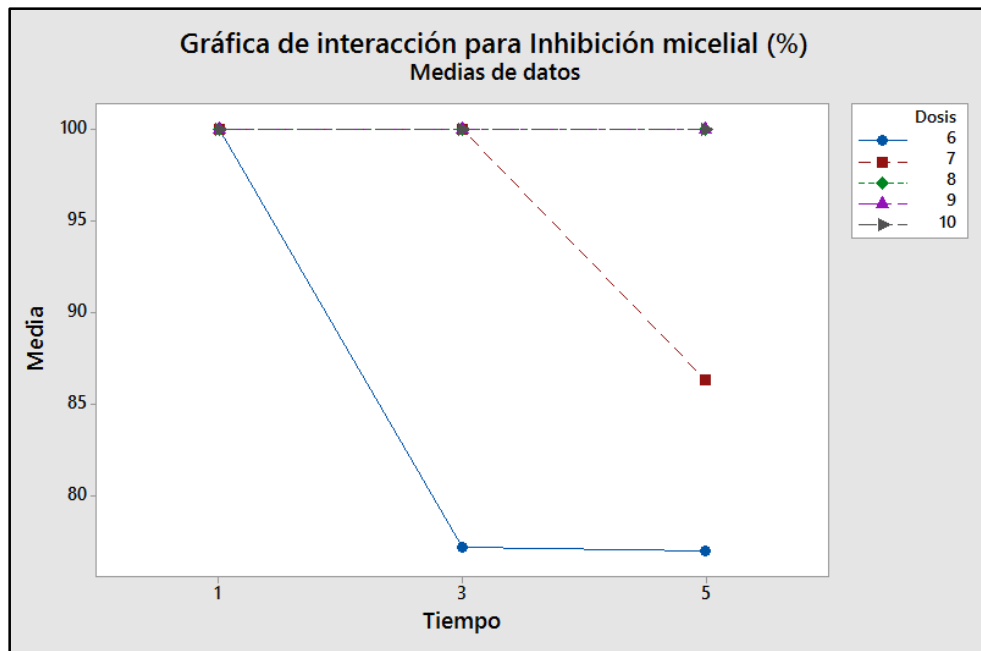


Figura 10. Gráfica de comparaciones de medias de la inhibición porcentual del crecimiento micelial del *Fusarium verticillioides* en los diferentes tiempos y dosis del extracto etanólico *Zingiber officinale*

### Interpretación:

En las comparaciones de medias podemos evidenciar que las dosis que comienzan a reducir la inhibición porcentual del crecimiento micelial en sus respectivos días de medición son al 6% (100 – 77.19 - 76.98) y 7% (100 - 100 - 86.34), lo que es probable que el fitopatógeno haya presentado resistencia ante los fúngicos, pero todo lo contrario para las dosis al 8%, 9% y 10% ya que mostraron resultados óptimos al punto de alcanzar en sus 3 días de mediciones un 100% de inhibición porcentual del crecimiento micelial.

#### IV. DISCUSIÓN

Dentro de los tres extractos etanólicos de vegetales estudiados, el que se sometió a mayores dosis para el control del fitopatógeno fue el *Allium sativum*, debido que para determinar la mejor eficiencia se tuvo que realizar una prueba piloto, donde se pudo identificar que su efectividad oscilaba entre las dosis 10% y 15%, si bien es cierto el ajos presento efecto controlador eficiente al 13% de dosis desde el primer día de su incubación debido a su poder biológico que contiene dicho vegetal que son los compuesto azufrados, tal como nos respalda Liu *et al* (2019) nos informa que; las sustancia extraídas de plantas que presentan en su estructura química un grupo funcional de azufre tienen poder antimicóticos y de amplio espectro ante el desarrollo de diversos fitopatogenos. Por otro lado Ramírez *et al* (2017) nos revela que a través del análisis de cromatografía líquida (HPLC) en el ajos pudo observar la lectura de los principales compuestos como alicina y ajoene, sustancias azufradas responsables de la inhibición micelial del *Fusarium verticillioides*. Por ende tuvieron eficiencia estadísticamente logrando obtener un (pvalor < 0.05) en todos los factores y en sus interacciones, donde dicho análisis deduce que todo los datos presentan diferencias estadísticamente significativas ya que un aumento de dosis sería letal en el control *in vitro* del patógeno.

Aguirre *et al* (2012) en su investigación para controlar un hongo del filo taxonómico ascomiceto *Botrytis cinérea* mediante el extracto etanólico del ajos; presentó resultados al 75 % de dosificación, debido que utilizaron la metodología de antibiograma de disco, dicha metodología es eficaz para análisis bacteriológicos debido que el filo ascomiceto presenta estructuras filamentosas y algodonosas en su crecimiento, por lo que una medición milimétrica no sería óptima, sin embargo los investigadores tuvieron en cuenta dicha técnica y emplearon la técnica de dilución de extracto en agar o también conocido como medio envenenado, donde se obtuvo resultados eficientes al punto de optimizar a un 13 % de dosis. El extracto etanólico del *Allium cepa* tuvo eficiencia a partir de 10 % de dosis, logrando inhibir completamente al fitopatógeno, esto fue posible gracias a sus metabolitos activos presentes en el vegetal tales como los flavonoides y los sulfoxidos, dentro del primer grupo mencionado se encuentra la quercentina, los cuales son compuestos que dentro de su estructura química contienen éteres fenólicos, al igual los sulfoxidos que presentan como éter al azufre, estos son los responsable del poder antifúngico del vegetal. En un análisis de cromatografía líquida (HPLC) por parte de los investigadores Sharma, Mahato y Lee

(2018); nos revela que la cebolla presenta como mayor concentración a los flavonoides, sin embargo esto explica del porque logro su objetivo en el estudio, tal como menciona Kuete (2017) en una investigación acerca de los efectos antimicrobianos de los componentes químicos presentes *Allium cepa*, donde indica que los preparados obtenidos de procesos químicos simples del vegetal inhiben a hongos del filo ascomicetos, lo cual es taxonomía del *F. verticillioides*, sin embargo esto se debió ya que entre sus principales agentes micóticos encontrados en dicho estudio fueron los flavonoides.

Por otro lado podemos observar en el cuadro de ANOVA (Tabla 9) que el factor Dosis es altamente significativo para el *Allium cepa* debido a su  $p$ valor=0.000, pero todo lo contrario para el tiempo y la interacciones entre los factores, ya que presentaron no tener diferencia significativas por lo que estadísticamente podemos deducir que no existe eficiencia, esto es debido a que el hongo presento resistencia en las primeras dosis (6%, 7%, 8%, y 9%) que fueron sometidas en el control *in vitro*, Ma y Michailides (2005) nos revela que los aislamientos tienen probabilidad de que los hongos logren ser resistentes debido que sufren cambios mutagénicos, llegando al punto de ser dominante de modo que reducen la sensibilidad del hongo frente a los fungicidas. Galeana *et al* (2017) nos comenta que la producción de fumonisina B1 por parte del *F. verticillioides* en el proceso de infección neutraliza cualquier defensa del vegetal. Por otro lado al pasar de los días comenzó el fitopatógeno a mantener el mismo cuerpo filamentosos desarrollado por lo que las lecturas de medición eran similares, por ende el programa estadístico comprobó que los datos presentaron igualdades.

El extracto etanólico del *Zingiber officinale* fue el más eficiente entre los vegetales estudiados, logrando a inhibir al fitopatógeno completamente al 8% de dosis en sus 3 días de medición, esto fue posible gracias a que este vegetal presenta entre sus componentes activos de poder antifúngico al gingerol y shogaol, tal como nos indica Hariram y Won (2015) en su análisis de cromatografía líquida (HPLC) en el extracto de jengibre, se observó la presencia de shogaol, gingerol y paradol, donde si bien es cierto son metabolitos que en su estructura química presentan éteres polifenólicos, estos químicos mencionados causan una hiperacidificación en la membrana plasmática del microorganismo logrando causar la muerte inmediata, por otro lado Dambolena *et al* (2012) nos informa en su investigación micológica donde ponen a prueba sustancias fenólicas contra el *Fusarium verticillioides*, que dichas sustancias causan disminuir el crecimiento radial del micelio, además provocan cambios en la biosíntesis de la pared logrando acortar la hifas, son capaces de ocasionar

cambios morfológicos en especies filamentosas tales como; falta de esporulación, pérdida de pigmentación y desarrollo de conidióforos. Por ende, en cuanto al cuadro de ANOVA del extracto de *Zingiber officinale*, sus factores dosis, tiempo e interacción entre ellos presentan un ( $p$ valor $<0.05$ ) lo que infiere que presentan una diferencia estadísticamente significativa en los datos, ya que se puede observar en la ficha de laboratorio que al aumentar las dosis el extracto etanólico inhibe indiscriminadamente al fitopatógeno en sus días de incubación.

García et al (2013) nos revela en su estudio que mediante el aceite esencial de *Zingiber officinale* contra el *Fusarium verticillioides*, se obtuvieron resultados inhibitorios en el desarrollo del hongo, trabajaron con concentraciones de 500 a 5000 Ug/ml, siendo sus concentraciones fungitoxicas de 4000 a 5000 Ug, donde a partir de dichos rango comienzan a inhibir óptimamente al *F.verticillioides*, emplearon la técnica de dilución en agar. Pero todo lo contrario en comparación del extracto etanólico del *Zingiber officinale* ya que inhibió el desarrollo del fitopatógeno en menos de la concentración propuesta por dichos investigadores ya que el kion mostro eficiencia en 1200 Ug aproximado transformando a sus concentraciones, donde se puede inferir que la extracción de los principios activos de los vegetales es mejor por maceración con etanol al 96% que los aceites esenciales obtenidos por otros procesos, además se trabajó con la misma técnica de cultivo de agar papa dextrosa donde los investigadores añadimos peptona para un mejor desarrollo y lectura morfológica del hongo.

## V. CONCLUSIONES

- Se evaluó la eficiencia de los extractos etanólicos de vegetales (*Allium sativum*, *Allium cepa* y *Zingiber officinale*) para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), donde comprobaron poseer efectos antifúngicos en los 3 EEV's.
- El extracto etanólico de *Allium sativum* presentó eficiencia a partir de la dosis 13% desde el primer día de incubación, inhibiendo hasta el 100% del crecimiento micelial del patógeno en relación al testigo; el cual representa un crecimiento milimétrico de 0 en la placa petri con el tratamiento.
- El extracto etanólico de *Allium cepa* presentó eficiencia a partir de la dosis 10% desde el primer día de incubación, inhibiendo hasta el 100% del crecimiento micelial del patógeno en relación al testigo; el cual representa un crecimiento milimétrico de 0 en la placa petri con el tratamiento.
- El extracto etanólico de *Zingiber officinale* presentó eficiencia a partir de la dosis 8% desde el primer día de incubación, inhibiendo hasta el 100% del crecimiento micelial del patógeno en relación al testigo; el cual representa un crecimiento milimétrico de 0 en la placa petri con el tratamiento.
- El extracto etanólico de *Allium cepa* no presenta eficiencia estadísticamente, debido que su  $p\text{valor} < 0.000$  en las interacciones "Dosis\*Tiempo" evidencian no tener diferencia significativa en sus datos.

## VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda tomar datos y resultados de esta investigación como base para próximos estudios fitosanitarios donde se requiera comprobar de modo *in situ* el poder antifúngico de estos extractos vegetales.
- Utilizar los extractos etanólicos de vegetales estudiados como antifungicos, para la búsqueda de nuevos hongos fitopatógenos o bacterias susceptibles ante estos poderes activos, dentro de análisis *in vitro* o *in situ*.
- Dosificar en un rango mayor a lo establecido para obtener resultados óptimos y evitar desarrollo del hongo en el transcurso del tiempo.
- Realizar un análisis de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) para determinar los grupos funcionales presentes en los extractos vegetales etanólicos.
- Extraer principios activos mediante otros procesos químicos para comparar y optimizar la inhibición de este fitopatógeno en los cultivos convencionales o industrializados.

## REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

- AGUIRRE, V., DELGAGO, V., ANRANGO, M. y DIAZ, N. Obtención y evaluación in vitro de la eficiencia de extractos con principios de eucalipto (*Eucalyptos globulus*), ajo (*allium sativum*) y crisantemo (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) como fungicidas naturales para el control de *Botrytis cinérea*, *Phragmidium mucronatum* y *Sphaerotheca pannosa* presentes en el cultivo de rosas orgánicas. Centro de investigaciones científicas. Noviembre 2012. [Fecha de consulta: 12 de octubre de 2018]. Disponible en <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/6840>
  
- ALBURQUEQUE, Diana, y GUSQUI, Roberto. Effectiveness of chemical fungicides for in vitro control of different phytopathogens in controlled conditions. Arnaldoa [en línea]. 2018, vol. 25, nro.2. [Fecha de consulta: 28 de setiembre de 2018]. Disponible en [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S241332992018000200009&script=sci\\_abstract&tlng=en](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S241332992018000200009&script=sci_abstract&tlng=en).  
ISSN: 1815 – 8242
  
- ALLER, Luis. Garlic and cardiovascular risk. Anales de medicina Interna (Madrid) [en línea]. Mayo 2008, Vol. 25, Nro.5. [Fecha de consulta: 09 de octubre de 2018]. Disponible en [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-71992008000500010](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992008000500010)  
ISSN: 0212-7199
  
- APOLONIO, Isela [et al]. In vitro inhibition of *Botrytis cinérea* with extracts of wild grapevine (*vitis spp*) leaves. Revista mexicana de fitopatología [en línea]. Mayo 2017, vol.35 no.2. [Fecha de consulta:13 de octubre de 2018].Disponible en [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33092017000200170](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092017000200170)  
ISSN: 0185-3309

- ARIAS, Fidias. Efectividad y eficiencia de la investigación tecnológica en la universidad. Revista Electrónica de Ciencia y Tecnología del Instituto Universitario de Tecnología de Maracaibo. [En línea] julio del 2017. Volumen 3, Numero 1, página 69. [Fecha de consulta: 6 de junio] Disponible en [https://www.researchgate.net/publication/320130761\\_Efectividad\\_y\\_eficiencia\\_de\\_la\\_investigacion\\_tecnologica\\_en\\_la\\_universidad](https://www.researchgate.net/publication/320130761_Efectividad_y_eficiencia_de_la_investigacion_tecnologica_en_la_universidad)  
ISSN: 2443-4426
  
- AVILA, Mónica [et al]. Flavonoides con actividad antifúngica aislados de *Piper septuplinervium* (Miq) C. DC. (*piperaceae*). Revista colombiana química [en línea].2011, vol.40, no. 1. [Fecha de consulta:10 de octubre de 2018].Disponible en <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/article/view/23146/28385>  
ISSN: 0120-2804
  
- BAENA, Guillermina. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN [en línea]. 1era Edición. México: Editorial Patria.2014. [Fecha de consulta: 16 de Noviembre del 2018]. Disponible en <http://www.editorialpatria.com.mx/pdf/files/9786074384093.pdf>  
ISBN: 978-607-744-003-1
  
- BEHAR, Daniel. METODOLOGÍA A LA INVESTIGACION. 1era edición. Editorial Shalom 2008. 18 pp.  
ISBN: 978-959-212-783-7
  
- BERUMEN, Guillermo [et al]. Efecto del ácido salicílico en la inducción de resistencia a *Colletotrichum* sp. en frutos de plátano durante postcosecha. Revista Iberoamericana de tecnología postcosecha[En línea].2015, vol. 16 no.1. [Fecha de consulta: 1 de diciembre de 2018]. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81339864004>  
ISSN: 1665-0204
  
- BORREGO, Sofía. Los biocidas vegetales en el control de biodeterioro de patrimonio documental; perspectivas e impacto. Revista CENIC ciencias biológicas



- [en línea]. Septiembre-diciembre 2015, Vol. 46, Nro.3. [Fecha de consulta: 03 de octubre de 2018]. Disponible en <http://www.redalyc.org/html/1812/181241373005/>
- BRAVO, Virya [et al]. USO DE PLAGUICIDAS EN CULTIVOS AGRÍCOLAS COMO HERRAMIENTA PARA EL MONITOREO DE PELIGROS EN SALUD. Revista UNICIENCIA [en línea]. Enero-Junio 2013, Vol. 27, Nro.1. [Fecha de consulta: 28 de setiembre de 2018]. Disponible en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4945335>.  
ISSN: 1101 – 0275
  - CACERES, Isaura [et al]. Antifungal activity in vitro of the Aqueous Extracts of Spice's Against *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma spp.*, *Penicillium digitatum* and *Aspergillus niger*. Revista mexicana de Fitopatología [en línea]. 2013, vol.31, no.2. [Fecha de consulta: 1 de diciembre de 2018]. Disponible en [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33092013000200003](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092013000200003)  
ISSN: 2007-8080
  - CAZAR, María [et al]. Eficacia de extracto etanólico de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) en el control de *Alternaria* sp. en cultivos de col y patata. Revista semestral de la DIUC [En línea]. Junio-2014, vol. 5, no.1. [Fecha de consulta: 15 de noviembre de 2018]. Disponible en <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/5583>  
ISSN: 1390-6143
  - CELIS, Alvaro [ et al]. Plant extracts used as biocontrol with emphasis on Piperaceae family. A review. Red de revistas científicas de América Latina, El Caribe, España y Portugal [en línea]. Abril 2008, Vol. 26, Nro.1. [Fecha de consulta: 09 de octubre de 2018]. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180314729012>  
ISSN: 0120-9965
  - CERMEÑO J. y TORRES J. Método espectrofotométrico en la preparación del inóculo de hongos dematiáceos. Revista Iberoamericana micológica [En línea]. Mayo

- 1998, 15: 155-157. [Fecha de consulta: 12 de noviembre de 2018]. Disponible en <http://www.reviberoammicol.com/1998-15/155157.pdf>
- CERQUEIRA, M [et al]. Antifungal activity of plant extracts with potential to control plant pathogens in pineapple. Revista Asian Pacific of Tropical Biomedicine [en línea]. Enero de 2016, vol 6, pág 26-31. [Fecha de consulta: 16 de abril de 2019]. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2221169115002531?via%3Dihub>  
ISSN: 2221-1691
  - CHAVARRI, Marleny [et al]. Detección de *fusarium verticillioides* y fumonisinas en granos de maíz blanco provenientes de los estados Yaracuy y Guarico, Venezuela. Nova Scienta [En línea]. 2017, vol.9, no.19. [Fecha de consulta: 12 de octubre de 2018]. Disponible en [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-07052017000200171&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-07052017000200171&script=sci_arttext&tlng=pt)  
ISSN: 2007-0705
  - DAMBOLENA, José y ZYGADLO, Julio. Inhibitory effect of 10 natural phenolic compounds on *Fusarium verticillioides*. A structure - property - activity relationship study. Journal Food Control, [en línea]. noviembre de 2012. Volumen 28, Número 1, páginas 163-170. [Fecha de consulta: 5 de junio de 2019]. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713512002319>  
ISSN: 0956-7135
  - DEL PUERTO, Asela, SUÁREZ, Susana y PALACIO, Estrada. Effects of pesticides on health and the environment. Revista cubana High Epidemial [en línea].2014, Vol. 52, Nro.3. [Fecha de consulta: 28 de setiembre de 2018]. Disponible en [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1561-30032014000300010](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032014000300010).  
ISSN: 1561 – 3003

- DEPARTMENT OF STUDIES IN MICROBIOLOGY, UNIVERSITY OF MYSORE. *Fusarium verticillioides*, a Globally Important Pathogen of Agriculture and Livestock: A Review N. Deepa and MY. Journal of Veterinary Medicine and Research [en línea]. Mayo 2017. Disponible en <https://www.jscimedcentral.com/VeterinaryMedicine/veterinarymedicine-4-1084.pdf>  
ISSN: 2378-931X
  
- FAJARDO, María, GONZÁLEZ, Elena y CASTAÑO, Hader. Estudio de extractos vegetales en la inhibición de la liberación de zoosporas de *Spongospora subterranea* f. sp. subterranea. Revista Politécnica [en línea]. Julio – Diciembre 2013, vol. 9 nro.17. [Fecha de consulta: 28 de setiembre de 2018]. Disponible en <http://revistas.elpoli.edu.co/index.php/pol/article/view/346>.  
ISSN: 1900 – 2351
  
- FERNANDEZ Torres, Belkys. Sensibilidad antifúngica de los dermatofitos. Tesis (Doctor en ciencias médicas). Reus, España: Universidad Rovira i Virgili. 2005, 58 pp. Disponible en <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/8718/TesisdoctoralporBelkysFernandez-Torres.pdf?sequence=1>
  
- FIGUEROA Guadalupe [et al]. Caracterización de Especies de *Fusarium* Asociadas a la Pudrición de Raíz de Maíz en Guanajuato, México. *Rev. mex. fitopatol* [En línea]. 2010, vol.28, n.2 [Fecha de consulta: 12 de octubre de 2018], pp.124-134. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S018533092010000200005&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018533092010000200005&lng=es&nrm=iso)  
ISSN 2007-8080.
  
- FIGUEROA, Kelly [et al]. Optical and structural characterization of *Allium sativum* L. nanoparticles impregnate in bovine loin. *Acta Agrónoma* [en línea]. Enero – Junio 2015, Vol. 64, Nro.1. [Fecha de consulta: 09 de octubre de 2018]. Disponible

en [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-28122015000100007](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28122015000100007)

ISSN: 2323-0118

- FLORES, Walter, CHICO, Julio y CERNA, Lisi. Actividad antagónica in vitro de *Clonostachys rosea* sobre *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani* y *Botrytis cinérea*. Revista Científica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Trujillo [en línea]. Enero-Junio 2015. [Fecha de consulta: 28 de setiembre de 2018]. Disponible en <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/faccbiol/article/view/873>.  
ISSN: 2313 – 3171
- GALEANA, E. [et al]. Fumonisin B1 produced in planta by *Fusarium verticillioides* is associated with inhibition of maize  $\beta$ -1,3-glucanase activity and increased aggressiveness. Journal Physiological and Molecular Plant Pathology. [en línea]. Diciembre de 2017. Volumen 100, páginas 75-83. [Fecha de consulta: 5 de junio de 2019]. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0885576517300759>  
ISSN: 0885-5765
- GARCÍA, Cipriano, GONZÁLEZ, María y CORTEZ, Edgardo. USE OF NATURAL ENEMIES AND BIORATIONAL PEST CONTROL OF CORN. Revista de sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable [En línea]. Septiembre – Diciembre 2012, vol.8, no3. [Fecha de consulta: 12 de octubre de 2018]. Disponible en : <http://uaim.edu.mx/webraximhai/Ej-25barticulosPDF/6%20GARCIA-GUTIERREZ.pdf>  
ISSN: 1665-0441
- GARCIA, Yamamoto y RIBEIRO, Milene [et al]. Effect of *Zingiber officinale* essential oil on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production. Diciembre 2013, vol. 141, no.3. [Fecha de consulta: 09 de mayo del 2019]. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814613007528>  
ISSN: 0308-814

- GÓMEZ, José, ARACIL, Belén y GIL, Yolanda. Comparison between agar dilution and three other methods for determining the susceptibility of 228 clinical isolates of nonfermenting gram-negative rods. *Journal of Infectious Diseases and Clinical Microbiology*. [En línea]. Junio 2009, vol. 27, no.6. [Fecha de consulta: 15 de mayo del 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X09001177>  
ISSN: 0213-005X
  
- GONZALES, Andreína. Programa de concientización para el uso de plaguicidas en la comunidad de productores agrícolas de Butare, municipio Colina, estado Falcón, Venezuela. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal* [en línea]. Julio-Setiembre 2014, Vol.14, Nro. 3. [Fecha de consulta: 28 de setiembre de 2018]. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90432809003>.  
ISSN: 1317 – 2255
  
- GONZALES, M [et al]. In vitro evaluation of antifungal activity of Agave (*Agave scabra*, Salm Dyck) extracts against post-harvest mushrooms. *International journal of experimental botany* [en línea]. 2015, Vol.84. [Fecha de consulta: 28 de setiembre de 2018]. Disponible en [http://www.revistaphyton.fund-romuloraggio.org.ar/vol84-2/Gonzalez\\_Alvarez.pdf](http://www.revistaphyton.fund-romuloraggio.org.ar/vol84-2/Gonzalez_Alvarez.pdf).  
ISSN: 0031 9457
  
- HARIRAM, Shivraj y WON Se. Chromatographic analysis, antioxidant, anti-inflammatory, and xanthine oxidase inhibitory activities of ginger extracts and its reference compounds. *Journa Industrial Crops And Products* [en línea]. Agosto del 2015, vol.70 pag. 238-244. [Fecha de consulta: 05 de mayo de 2019]. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669015002228>  
ISSN:0926-6690
  
- HERNANDEZ, Vidal. [et al]. A situação das Annonaceae no México: principais pragas, doenças e controle. *Revista Brasileira de Fruticultura* [en línea]. 2014, Vol. 36. [Fecha de consulta: 28 de setiembre de 2018]. Disponible en

[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S01002945201400050000](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S01002945201400050000)

5. ISSN: 0100 – 2945

- HORNUM, P., RIDAO, M. y CASTAÑO, F. Comparación entre técnicas de inoculación de *Fusarium verticillioides* en espigas de maíz. Revista de investigación agropecuarias [En línea]. 2013, vol.39 no.3. [Fecha de consulta: 12 de octubre de 2018]. Disponible en [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1669-23142013000300015](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1669-23142013000300015)  
ISSN: 1669-2314
- IGLESIAS, Dianella [et al]. Actividad antifúngica *in vitro* de extractos de hojas de *Citrus* spp. Frente a *Stemphyllium solani* Weber. Revista centro agrícola [en línea]. Julio- septiembre 201, vol. 44, no. 3. [Fecha de consulta:12 de noviembre de 2018].Disponible en <http://scielo.sld.cu/pdf/cag/b44n3/cag01317.pdf>  
ISSN: 0253-5785
- ITURBIDE, Anygim [et al]. In vitro evaluation of extracts from the Liliium genus to control *Fusarium Oxysporum*. Revista Mexicana de fitopatología [en línea]. Septiembre 2017, vol.35, no.3. [Fecha de consulta:13 de octubre de 2018].Disponible en [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33092017000300611](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092017000300611)  
ISSN: 0185-3309
- JASSO, D [et al]. Antifungal activity in vitro of ethanol and aqueous extracts of leaves and branches of *Flourensia* spp. against postharvest fungi. Industrial Crops and Products [en línea]. 15 de Noviembre del 2017, vol 107, pág 499-508. [Fecha de consulta: 14 de abril del 2019]. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669017302844?via%3Dihub>  
ISSN: 0926-6690

- JEREZ, Adriana [et al]. Estudio de las propiedades benéficas en la cebolla (*allium cepa L.*) en el departamento de Tarija. Revista Ventana Científica. 2017, vol.8 no.13. disponible en [http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S2305-60102017000100003&script=sci\\_arttext](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S2305-60102017000100003&script=sci_arttext)  
ISSN: 2305-6010
  
- JIMENEZ, P [et al]. Estrategias de control biológico de *Fusarium Oxysporum* en el cultivo de UCHUVA (*Physalis pruviana*). [en línea]. Primera edición, Colombia. 2012, pp. 14. [Fecha de consulta: 28 de setiembre de 2018]. Disponible en [http://digitool.gsl.com.mx:1801/webclient/DeliveryManager?pid=64218&custom\\_att\\_2=direct4](http://digitool.gsl.com.mx:1801/webclient/DeliveryManager?pid=64218&custom_att_2=direct4).  
ISBN: 978-958-740-093-9
  
- JULCA, Alberto [et al]. Efecto de seis fungicidas sobre el crecimiento in vitro de *Mycena citricolor* (Berk & Curt). Revista de la Facultad de Ingeniería de la USIL. 1<sup>er</sup> semestre 2015, Vol. 2, Nro. 1.  
ISSN: 2311 – 7915
  
- KUETE, Victor. Chapter 14 - Allium cepa. Book Medicinal Spices and Vegetables from Africa. [en línea]. 2017. páginas 353-361. [Fecha de consulta: 5 de junio de 2019]. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128092866000145>  
ISBN: 978-0-12-809286-6
  
- LÓPEZ, Laura [et al]. Evaluación de la actividad antifúngica del quitosano en *Alternaria alternata* y en la calidad del mando Tommy atkins durante el almacenamiento. Revista Chapingo [En línea]. Setiembre- diciembre 2013, vol.19 no.3. [Fecha de consulta: 1 de diciembre de 2018]. Disponible en [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1027-152X2013000300005&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1027-152X2013000300005&script=sci_arttext)  
ISSN: 1027-152X

- LIU, Jingbo [et al]. Synthesis, biological activities and 3D-QSAR studies of (R)-2-phenyl-4,5- dihydrothiazole-4-carboxamide derivatives containing a sulfur ether moiety. Revista Chinese chemical letters [En línea]. Marzo del 2019, vol.30, no.3. [Fecha de consulta: 5 de mayo de 2019]. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1001841718304285>  
ISSN: 1001-8417
  
- MA, Zhonghua, MICHAILIDES, Themis. Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. Journal Crop Protection. [en línea]. octubre de 2005. Volumen 24, Número 10, páginas 853-863. [Fecha de consulta: 6 de junio]. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219405000396#!>  
ISSN: 0261-2194
  
- MARQUEZ, R., DE LA ROSA, C. y MERCADO, A. Actividad antifúngica del extracto total en etanol de las hojas frescas de *Pedilanthus tithymaloides* L Poit (ULTIMORRIAL). Scientia et Technica [En línea]. Mayo 2007, no. 33. [Fecha de consulta: 12 de noviembre de 2018]. Disponible en <http://revistas.utp.edu.co/index.php/revistaciencia/article/view/6171/3201>  
ISSN: 0122 – 1701
  
- MERIGA, Balaji, MOPURI, Ramgopal, MURALIKRISHNA, T. Insecticidal, antimicrobial and antioxidan activities of bulb extracts of *Allium sativum*. [En línea]. 2012, vol. 5, no. 5, pág. 391 - 395. [Fecha de consulta: 09 de mayo del 2019]. Disponible <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1995764512600650>  
ISSN: 1995-7645
  
- MONTGOMERY, Douglas. DISEÑO Y ANÁLISIS DE EXPERIMENTOS. 2da Edición. Limusa Wiley: México, 2013. 175 pp.  
ISBN: 968-18-6156-6



- MORÓN TEVEZ, Rubith. EVALUACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIFÚNGICA IN-VITRO DE TRES ESPECIES DE HONGOS CAUSANTES DE QUERATITIS FÚNGICA: *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* y *Fusarium solani* DEL GEL OFTÁLMICO DE VORICONAZOL. Tesis (Químico farmacéutico). Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia.2017, 35 pp.
  
- OCHOA, Y [et al]. Evaluación in vitro de la actividad antifúngica de cuatro extractos vegetales metanolicos para el control de tres especies de *Fusarium* spp. Revista internacional de botánica experimental [en línea]. Setiembre 2012. [Fecha de consulta: 15 de noviembre de 2018]. Disponible en <http://www.scielo.org.ar/pdf/phyton/v81n1/v81n1a10.pdf>  
ISBN: 0031-9457
  
- ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACION Y LA AGRICULTURA (FAO). Combatting *fusarium* wilt disease of banana. Emergency Prevention System. Agosto 2016. Disponible en <http://www.fao.org/3/a-i5874e.pdf>
  
- PEIRETTI, Daniel [et al]. Susceptibilidad a *Fusarium Verticillioides* (SACC.) Nirenberg en la población de Maíz MPB – FCA 856<sup>1</sup>. Revista de agronomía mesoamericana [En línea]. 2007, vol.18, no.2. [Fecha de consulta: 12 de octubre de 2018]. Disponible en [http://www.mag.go.cr/rev\\_meso/v18n02\\_171.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_meso/v18n02_171.pdf)  
ISSN: 1021-7444
  
- PÉREZ, Edel. Plaguicidas botánicos: Una alternativa a tener en cuenta. Red de revistas científicas de América Latina, El Caribe, España y Portugal. [en línea]. Abril 2012, Vol.16, Nro.1. [Fecha de consulta: 03 de octubre de 2018]. Disponible en <http://www.redalyc.org/pdf/2091/209125190002.pdf>  
ISSN: 1562-3009
  
- PINO, Oriela, SÁNCHEZ, Yaíma y ROJAS, Miriam. Plan Secondary metabolites as alternatives in pert management. II: An overview of their potencial in Cuba. Revista

- de protección vegetal [en línea]. Mayo 2013, vol.28, no.2. [Fecha de consulta: 12 de octubre de 2018]. Disponible en <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v28n2/rpv02213.pdf>  
ISSN: 1010-2752
- QUINTANA, Eber [et al]. Inhibición del crecimiento de *Penicillium chrysogenum* por presencia de aceites *Cinnamomun zeylanicun*, *Allium cepa* y *Cymbopogon citratus*. Revista mexicana de micología [en línea]. Diciembre 2010, vol. 32. [Fecha de consulta: 10 de octubre de 2018]. Disponible en [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S018731802010000200007&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S018731802010000200007&script=sci_arttext&tlng=pt)  
ISSN: 0187-3180
  - RAMIREZ, Daniela [et al]. Analytical methods for bioactive sulfur compounds in allium: An integrated review and future directions. Revista Food Composition and Analysis [en línea]. Agosto 2017, vol.61. [Fecha de consulta: 05 de mayo del 2019]. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157516301624>  
ISSN: 0889-1575
  - RAMIREZ, Sandra [et al]. Actividad antifúngica in vitro de extractos de *Origanum vulgare L.*, *Tradescantia spathacea Swartz* y *Zingiber officinale Roscoe* sobre *Moniliophthora roreri* (Cif & Par) Evans et ál. Tecnología en marcha [en línea]. Abril- Junio 2011, vol.24, Nro. 2. [Fecha de consulta: 09 de octubre de 2018]. Disponible en <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4835560.pdf>
  - RODRIGUEZ, Aida [et al]. Antifungal activity of *Acacia farnesiana* extracts on the in vitro growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Revista Científica UDO agrícola [en línea]. 2012, Vol. 12, Nro.1. [Fecha de consulta: 28 de setiembre de 2018]. Disponible en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4277990>.  
ISSN: 1317 – 9152
  - RODRÍGUEZ, Aida, MORALES, Daysi y RAMÍREZ. Efecto de extracto vegetales sobre el crecimiento In Vitro de Hongos Fitopatógenos. Red de revistas científicas

de América latina, el Caribe, España y Portugal [en línea]. Abril – junio 2000, vol. 21, no. 2. [Fecha de consulta: 15 de Noviembre de 2018]. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193215024014>

ISSN: 0258-5936

- RODRIGUEZ, Alfonso [et al]. Antifungal effect of phenolic and carotenoids extracts from *chiltepin* (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*) on *Alternaria alternata* and *Fusarium oxysporum*. Revista Argentina de Microbiología [en línea]. Enero – Marzo 2015, vol. 47, no.1. [Fecha de consulta: 09 de mayo de 2019]. Disponible en

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S032575411500005X>

ISSN: 0325-7541

- RUBIO, Giulliana [et al]. Resistencia in vitro de *Rhizoctonia solania* y *Fusarium oxysporium* a los fungicidas Benzomil 500, Rhizolex-T y Homai-WP. Revista biológica de la Universidad de Trujillo [en línea]. Julio-Diciembre 2008, Vol. 28 Nro. 2. [Fecha de consulta: 28 de setiembre de 2018]. Disponible en [http://www.facbio.unitru.edu.pe/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_download&gid=47&Itemid=62](http://www.facbio.unitru.edu.pe/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=47&Itemid=62).

- SARTORI, Melina, NESCI, Andrea y ETCHEVERRY, Miriam. Infección de *Fusarium verticillioides* y contenido de fumonisinas en granos de maíz de plantas con inflorescencias femeninas cubiertas y no cubiertas. Revista de la facultad de ciencias agrarias [En línea]. Junio 2015, vol.47, no.1. [Fecha de consulta: 12 de octubre de 2018]. Disponible en [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1853-86652015000100018&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1853-86652015000100018&script=sci_arttext&tlng=pt)

ISSN: 1853-8665

- SHARMA, K; MAHATO, N. Y LEE, Y. Systematic study on active compounds as antibacterial and antibiofilm agent in aging onions. Journal of Food and Drug Analysis. [en línea]. Abril de 2018. Volumen 26, Número 2, páginas 518-528. [Fecha de consulta: 5 de junio de 2019]. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1021949817301369>

ISSN: 1021-9498

- SOLANO, Alma [et al]. La Pigmentación de *Fusarium Verticillioides* (SACC.) como factor de virulencia en plántulas de maíz. Revista de agronomía mesoamericana [En línea]. 2011, vol. 22, no.2. [Fecha de consulta: 12 de octubre de 2018]. Disponible en [http://www.mag.go.cr/rev\\_meso/v22n2\\_297.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_meso/v22n2_297.pdf)

ISSN: 1021-7444

- TORRES, Diana [et al]. Fumonisin – Síntesis y función en la interacción; *Fusarium verticillioides*. Revista Especializada en Ciencias [En línea]. 2014, vol.17, no. 1. [Fecha de consulta: 12 de octubre de 2018]. Disponible en <http://www.scielo.org.mx/pdf/tip/v17n1/v17n1a6.pdf>

- VASQUEZ, Daniel. Essential Oils and Aqueous Extracts for the in vitro Management of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *F. solani* p. Revista Mexicana de Fitopatología [en línea]. 2014, Vol. 31, Nro. 2. [Fecha de consulta: 28 de setiembre de 2018]. Disponible en [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33092013000200008](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092013000200008).

ISSN: 0185 – 3309

- VÁZQUEZ, FJ., CRUZ, MR. y AYALA JF. Onion (*Allium cepa*) Essential Oils. Book of Essential Oils in the Conservation of Food, Taste and Safety. 2016, pág. 617-623. [Fecha de consulta: 13 de mayo del 2019]. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124166417000705>

ISBN: 978-0-12-416641-7

- VILLA, Alejandra [et al]. Situación actual en el control de *Fusarium spp.* y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. Acta Agronómica [en línea]. Abril 2015, v. 64, n. 2. [Fecha de consulta: 10 de octubre de 2018]. Disponible en [https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta\\_agronomica/article/view/43358/50649](https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/43358/50649)

ISSN: 2323-0118

- XING, Fuguo [et al]. Growth inhibition and morphological alterations of *Fusarium verticillioides* by cinnamon oil and cinnamaldehyde. *Food control*. [En línea]. Diciembre de 2014, vol 36, pág 343-350. [Fecha de consulta: 28 de mayo]. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713514002345?via%3Dihub#>!
- ISSN: 0956-7135
  
- ZAMBRANO, Eleonora. Genetic diversity of ginger (*Zingiber officinale Roscoe.*) At the molecular level: progress of the last decade. *Julio - Diciembre, 2015* vol. 11, no. 2, p. 190-199. [Fecha de consulta: 09 de octubre de 2018]. Disponible en <http://dx.doi.org/10.18041/entramado.2015v11n2.22239>




## ANEXOS

### Anexo 1: Matriz de consistencia.

MATRIZ DE CONSISTENCIA							
"Eficiencia de extractos etanólicos de vegetales para el control <i>in vitro</i> del hongo fitopatógono ( <i>Fusarium verticillioides</i> ), Lima - 2019"							
Problemas	Objetivos	Hipótesis	Variables	Definición Conceptual	Definición Operativa	Dimensiones	Indicadores
<p>General:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>¿Los extractos etanólicos de vegetales tienen eficiencia para el control <i>in vitro</i> del hongo fitopatógono (<i>Fusarium verticillioides</i>), Lima-2019?</li> </ul> <p>Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>¿El extracto etanólico de ajos (<i>Allium sativum</i>) tiene eficiencia para el control <i>in vitro</i> del hongo fitopatógono (<i>Fusarium verticillioides</i>), Lima-2019?</li> <li>¿El extracto etanólico de cebolla (<i>Allium cepa</i>) tiene eficiencia para el control <i>in vitro</i> del hongo fitopatógono (<i>Fusarium verticillioides</i>), Lima-2019?</li> <li>¿El extracto etanólico de kion (<i>Zingiber officinale</i>) tiene eficiencia para el control <i>in vitro</i> del hongo fitopatógono (<i>Fusarium verticillioides</i>), Lima-2019?</li> </ul>	<p>General:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Evaluar la eficiencia de los extractos etanólicos de vegetales para el control <i>in vitro</i> del hongo fitopatógono (<i>Fusarium verticillioides</i>), Lima-2019.</li> </ul> <p>Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Determinar la eficiencia del extracto etanólico de ajos (<i>Allium sativum</i>) para el control <i>in vitro</i> del hongo fitopatógono (<i>Fusarium verticillioides</i>), Lima-2019.</li> <li>Determinar la eficiencia del extracto etanólico de cebolla (<i>Allium cepa</i>) para el control <i>in vitro</i> del hongo fitopatógono (<i>Fusarium verticillioides</i>), Lima-2019.</li> <li>Determinar la eficiencia del extracto etanólico de kion (<i>Zingiber officinale</i>) para el control <i>in vitro</i> del hongo fitopatógono (<i>Fusarium verticillioides</i>), Lima-2019.</li> </ul>	<p>General:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Los extractos etanólicos de vegetales tienen eficiencia significativa para el control <i>in vitro</i> del hongo fitopatógono (<i>Fusarium verticillioides</i>), Lima-2019.</li> </ul> <p>Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>El extracto etanólico de ajos (<i>Allium sativum</i>) tiene eficiencia significativa para el control <i>in vitro</i> del hongo fitopatógono (<i>Fusarium verticillioides</i>), Lima-2019.</li> <li>El extracto etanólico de cebolla (<i>Allium cepa</i>) tiene eficiencia significativa para el control <i>in vitro</i> del hongo fitopatógono (<i>Fusarium verticillioides</i>), Lima-2019.</li> <li>El extracto etanólico de kion (<i>Zingiber officinale</i>) tiene eficiencia significativa para el control <i>in vitro</i> del hongo fitopatógono (<i>Fusarium verticillioides</i>), Lima-2019.</li> </ul>	<p>Variable independiente:</p> <p>Extractos etanólicos de vegetales</p>	<p>Fidias (2017); el término eficiencia en investigaciones se conceptualiza como el logro del objetivo deseado con menor cantidad de recursos e inversión de tiempo.</p> <p>Según Iturbide et al (2017) Los extractos etanólicos de vegetales son sustancias obtenidas por extracciones de vegetales mediante un proceso químico simple usando como solvente el etanol, en donde dan la apertura a un modo de biocontrol de fitopatógenos en la agricultura intensiva.</p>	<p>Se realizó las mediciones mediante una ficha técnica de observación para las pruebas, teniendo en cuenta los tipos de extractos etanólicos de vegetales, dosificación y tiempo.</p>	<p>Extractos etanólicos de vegetales</p> <p>Dosis</p> <p>Tiempo</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>Allium sativum</i></li> <li><i>Allium cepa</i></li> <li><i>Zingiber officinale</i></li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>% 6 (V/v) – 15% (V/v)</li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>Día 1 – Día 3 – Día 5</li> </ul>
			<p>Variable dependiente:</p> <p>Control del hongo fitopatógono (<i>Fusarium verticillioides</i>)</p>	<p>Según Gonzáles et al (2015), el género fitopatógono <i>Fusarium</i> es controlado de modo <i>in vitro</i> por el bioensayo de dilución del extracto en agar o también conocida como técnica del medio envenenado, debido que estas pruebas evalúan la inhibición del crecimiento micelial, de esporulación y germinación de conidios.</p>	<p>El <i>Fusarium verticillioides</i> es controlado en medios de cultivos de APD P diluidos con las diferentes dosificaciones antifúngicas, en donde los resultados fueron medidos en relación a las pruebas testigos (medios sin tratamientos) para obtener dichos resultados en porcentajes de inhibición del crecimiento micelial por medio de una ecuación.</p>	<p>Inhibición del crecimiento micelial</p>	<p>%ICM (porcentaje de inhibición del crecimiento micelial)</p>

Fuente: Propia

**Anexo 2:** Certificado de calibración del instrumento.

	LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO POR EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN INACAL – DA CON REGISTRO N° LC - 001																		
		Registro N° LC - 001																	
<b>CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN N° L-1154-2018</b>																			
Fecha de emisión : 2018-11-23		Expediente : 82361 Página 1 de 3																	
<b>1. Solicitante : SOLIS AQUINO LUIS SANTIAGO</b>		Los resultados del certificado son válidos sólo para el objeto calibrado y se refieren al momento y condiciones en que se realizaron las mediciones y no deben utilizarse como certificado de conformidad con normas de producto.  Se recomienda al usuario recalibrar el instrumento a intervalos adecuados, los cuales deben ser elegidos con base en las características del trabajo realizado, el mantenimiento, conservación y el tiempo de uso del instrumento.  METROIL S.A.C. no se responsabiliza de los perjuicios que pueda ocasionar el uso inadecuado de este instrumento o equipo después de su calibración, ni de una incorrecta interpretación de los resultados de la calibración aquí declarados.  Este certificado de calibración es trazable a patrones nacionales o internacionales, los cuales realizan las unidades de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI).  Este certificado de calibración no podrá ser reproducido parcialmente, excepto con autorización previa por escrito de METROIL S.A.C.  El certificado de calibración no es válido sin la firma del responsable técnico de METROIL S.A.C.																	
<b>2. Dirección : Calle Hernán Cortez 891 - El Agustino</b>																			
<b>3. Instrumento : PIE DE REY</b>																			
• Marca / Fabricante : UBERMANN																			
• Modelo : No indica																			
• Número de serie : No indica																			
• Procedencia : No indica																			
• Código de identificación : ML-3433 ( * )																			
• Alcance de indicación : 0 mm a 150 mm																			
• División mínima : 0,01 mm																			
• Tipo de indicación : Digital																			
• Código de fábrica : No indica																			
• Ubicación : No indica																			
<b>4. Lugar de calibración : Laboratorio de Longitud y Ángulo de METROIL S.A.C.</b>																			
<b>5. Fecha de calibración : 2018-11-23</b>																			
<b>6. Método de calibración</b> La calibración se efectuó por comparación directa, según el PC-012 Edición 5 "Procedimiento de calibración de Pie de Rey" del INDECOPI-SNM.																			
<b>7. Trazabilidad</b> Los resultados de la calibración realizada tienen trazabilidad a los patrones nacionales del INACAL - DM, en concordancia con el Sistema Internacional de Unidades de Medida (SI) y el Sistema Legal de Unidades de Medida del Perú (SLUMP)																			
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Código</th> <th>Instrumento patrón</th> <th>Certificado de calibración</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>IL-068</td> <td>Bloque patrón de longitud Grado 0</td> <td>LLA-C-058-2018 / INACAL-DM</td> </tr> <tr> <td>IL-135</td> <td>Bloque patrón de longitud Grado 0</td> <td>LLA-291-2018 / INACAL-DM</td> </tr> <tr> <td>IL-173</td> <td>Anillo patrón Incertidumbre de 0,6 µm</td> <td>LLA-010-2018 / INACAL-DM</td> </tr> <tr> <td>IL-177</td> <td>Varilla patrón Incertidumbre de 0,4 µm</td> <td>LLA-322-2018 / INACAL-DM</td> </tr> <tr> <td>IT-449</td> <td>Termómetro de contacto Incertidumbre de 0,07 °C</td> <td>T-1972-2018 / METROIL S.A.C.</td> </tr> </tbody> </table>	Código	Instrumento patrón	Certificado de calibración	IL-068	Bloque patrón de longitud Grado 0	LLA-C-058-2018 / INACAL-DM	IL-135	Bloque patrón de longitud Grado 0	LLA-291-2018 / INACAL-DM	IL-173	Anillo patrón Incertidumbre de 0,6 µm	LLA-010-2018 / INACAL-DM	IL-177	Varilla patrón Incertidumbre de 0,4 µm	LLA-322-2018 / INACAL-DM	IT-449	Termómetro de contacto Incertidumbre de 0,07 °C	T-1972-2018 / METROIL S.A.C.	
Código	Instrumento patrón	Certificado de calibración																	
IL-068	Bloque patrón de longitud Grado 0	LLA-C-058-2018 / INACAL-DM																	
IL-135	Bloque patrón de longitud Grado 0	LLA-291-2018 / INACAL-DM																	
IL-173	Anillo patrón Incertidumbre de 0,6 µm	LLA-010-2018 / INACAL-DM																	
IL-177	Varilla patrón Incertidumbre de 0,4 µm	LLA-322-2018 / INACAL-DM																	
IT-449	Termómetro de contacto Incertidumbre de 0,07 °C	T-1972-2018 / METROIL S.A.C.																	
<b>8. Condiciones de calibración</b> Temperatura ambiental : Inicial : 19,2 °C Final : 19,4 °C Humedad relativa : Inicial : 46,9 % H.R. Final : 46 % H.R.																			
																			
YANINA RIOS CHAVEZ Jefe del Laboratorio de Longitud y Ángulo																			
METROLOGÍA E INGENIERÍA LINO S.A.C.																			

**Anexo 3:** Procedimiento para la preparación de Agar papa dextrosa peptona (PDAP).

AGAR PAPA DEXTROSA PEPTONA (PDAP)	
<b>Ingredientes:</b>	
Papa	200 gr.
Agar	13 gr.
Dextrosa	20 gr.
Peptona	03 gr.
Agua destilada	01 Litro
<b>Preparación:</b>	
<ol style="list-style-type: none"><li>1. Colocar en un recipiente 500 ml. de agua destilada y agregar 13 gr. de agar-agar en polvo grado bacteriológico, agregar además 20 gramos de dextrosa en polvo y 3 gr de peptona. Calentar con un mechero hasta que se desintegren las partículas de agar, teniendo cuidado de que la solución no se rebalse del envase al calentar.</li><li>2. En otro recipiente añadir 500 ml. de agua destilada y agregar 200 gr. de papa cortada en trozos pequeños hasta que sancoche al dente.</li><li>3. Mezclar ambas soluciones muy homogéneamente, taponear con algodón y cubrir el cuello del balón con una hoja de papel y sujetar con una liga o cinta adhesiva.</li><li>4. Esterilizar, durante 30 minutos utilizando el autoclave tipo Chamberlain.</li></ol>	



**Anexo 4:** Informe técnico de identificación del hongo *Fusarium verticillioides*.

### INFORME TECNICO

La Srta. Ana Apaza solicito la identificación taxonómica de un cultivo de hongo desarrollado en una placa Petri, por lo que se procedió a realizar la observación microscópica de las estructuras del hongo extraídas en una lámina porta objetos. La observación se realizó en un microscopio a los aumentos de 40 X y 100 X y se realizó las mediciones y descripción de las estructuras, siguiendo las descripciones realizadas por Tsuneo Watanabe. Los resultados indican que se trata de la especie *Fusarium verticillioides* (= *F. moniliforme*).

### CLASIFICACION TAXONOMIA

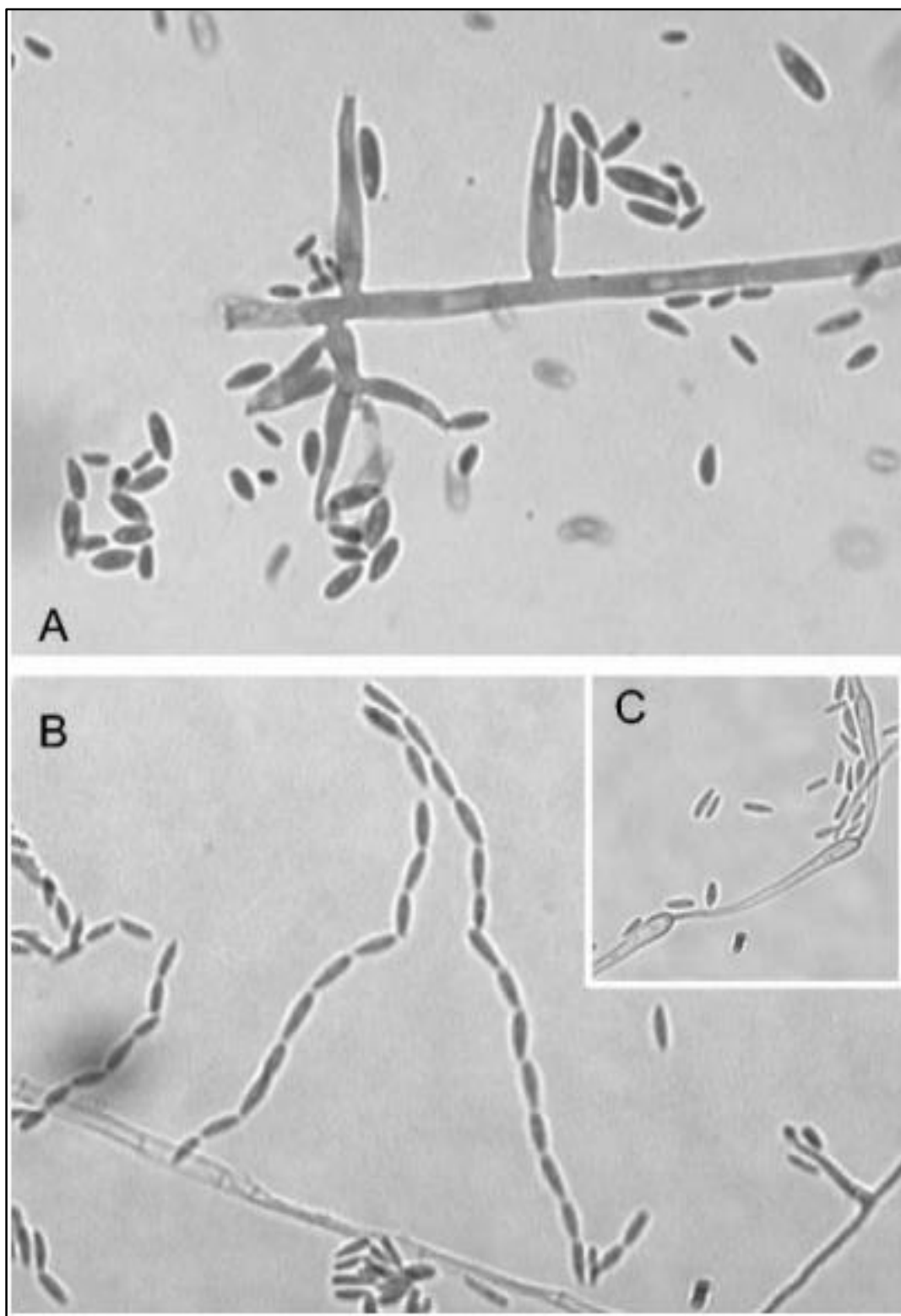
<b>REINO</b>	<b>FUNGI</b>
<b>FILO</b>	<b>ASCOMYCOTA</b>
<b>CLASE</b>	<b>ASCOMYCETES</b>
<b>ORDEN</b>	<b>HIPOCREALES</b>
<b>FAMILIA</b>	<b>NECTRIACEAE</b>
<b>GENERO</b>	<i>Fusarium</i>
<b>ESPECIE</b>	<i>Fusarium verticillioides</i>

Atentamente,



**Ing. Carlos Torres L.**  
Ing. Agrónomo  
Especialista en Fitopatología

**Anexo 5:** Fotos microscópicas del *Fusarium verticillioides*.



**Anexo 6:** Cultivo de cepas del *Fusarium verticillioides* proveniente de un maíz infectado.

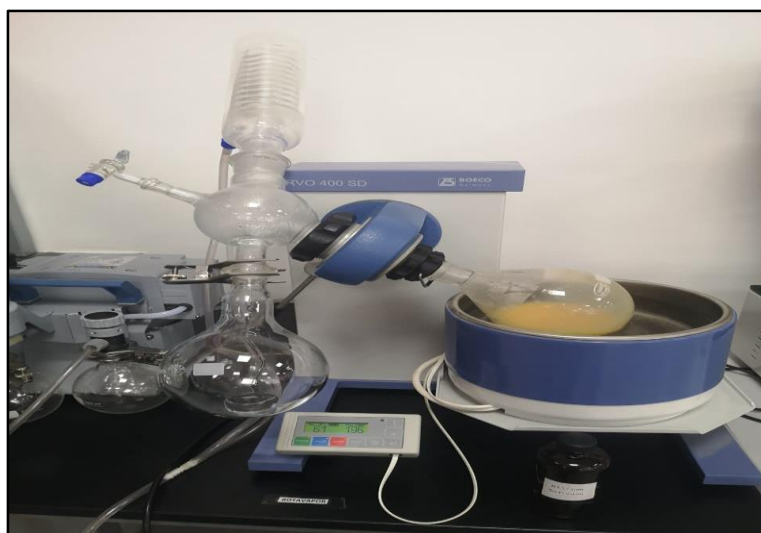


**Anexo 7:** Preparación y obtención de extractos etanólicos de vegetales.

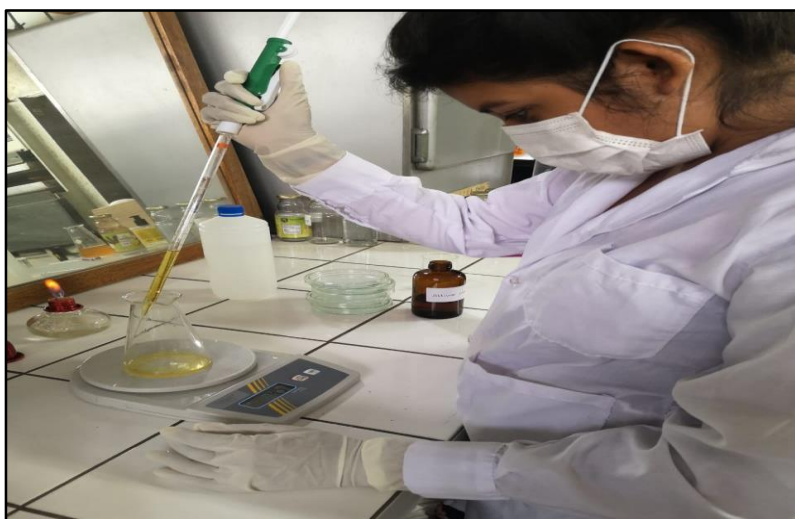




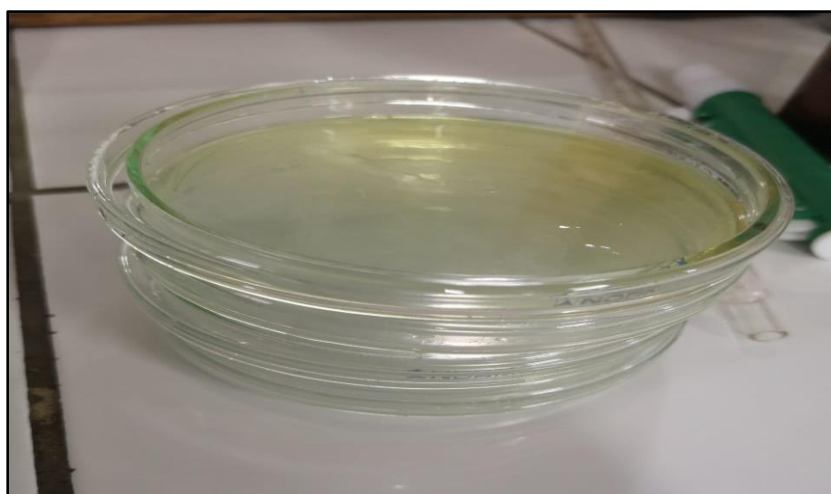
**Anexo 8:** Evaporación del etanol para la obtención de extracto crudo mediante el Rotavapor marca Boeco Germany.



**Anexo 9:** Homogenización de los extractos etanólicos en diferentes dosis con APD P.



**Anexo 10:** Plaqueo de soluciones homogenizadas (EEV + APD P) para su posterior solidificación.



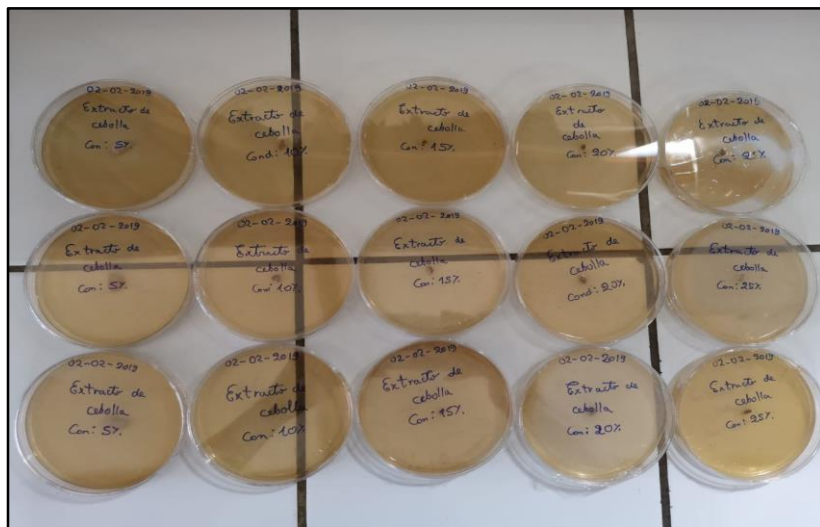
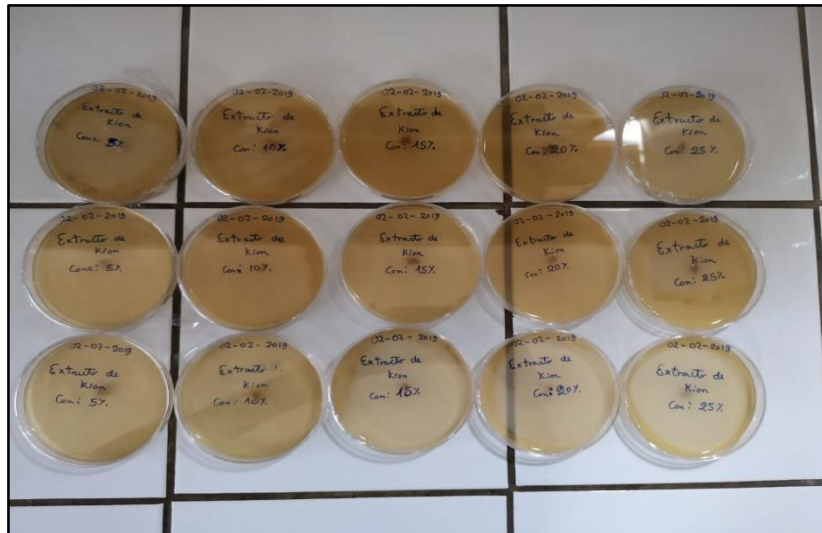
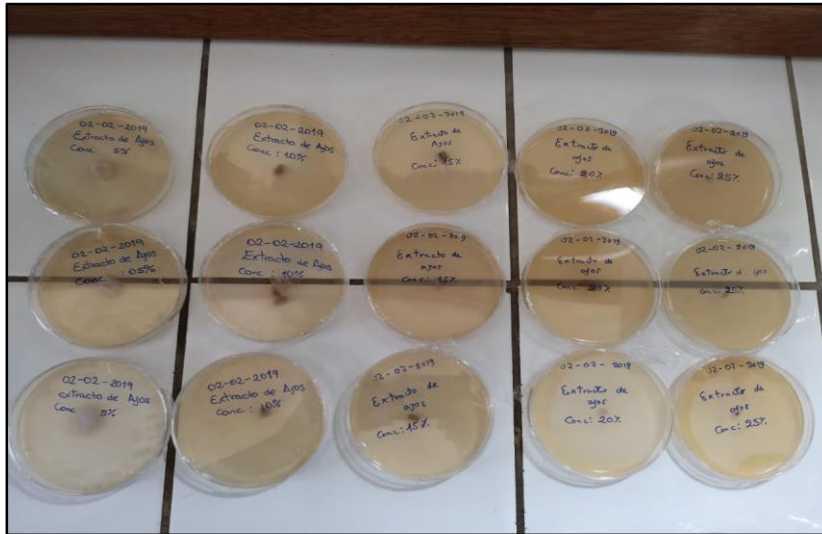


**Anexo 11:** Cultivo de *Fusarium verticillioides* en el medio de PDAP + EEV e incubación.





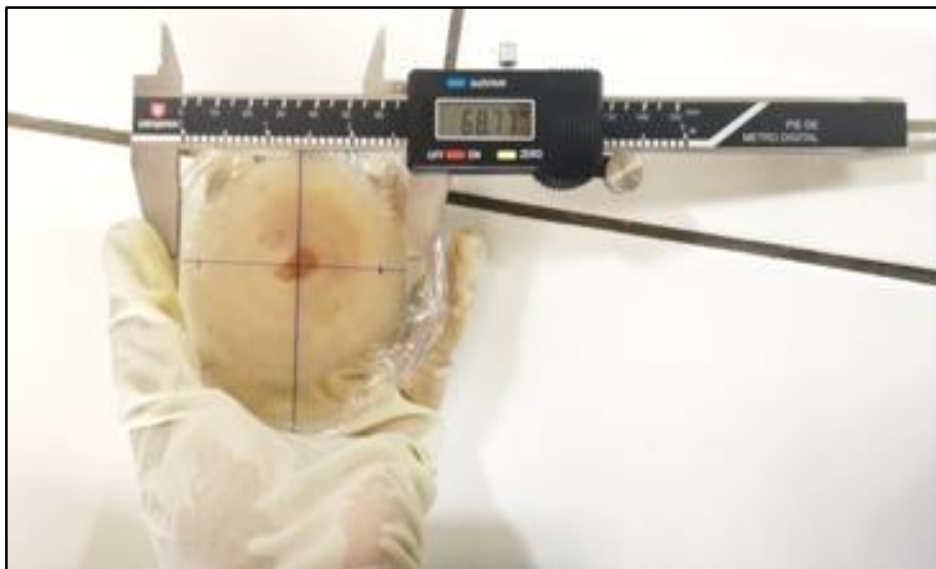
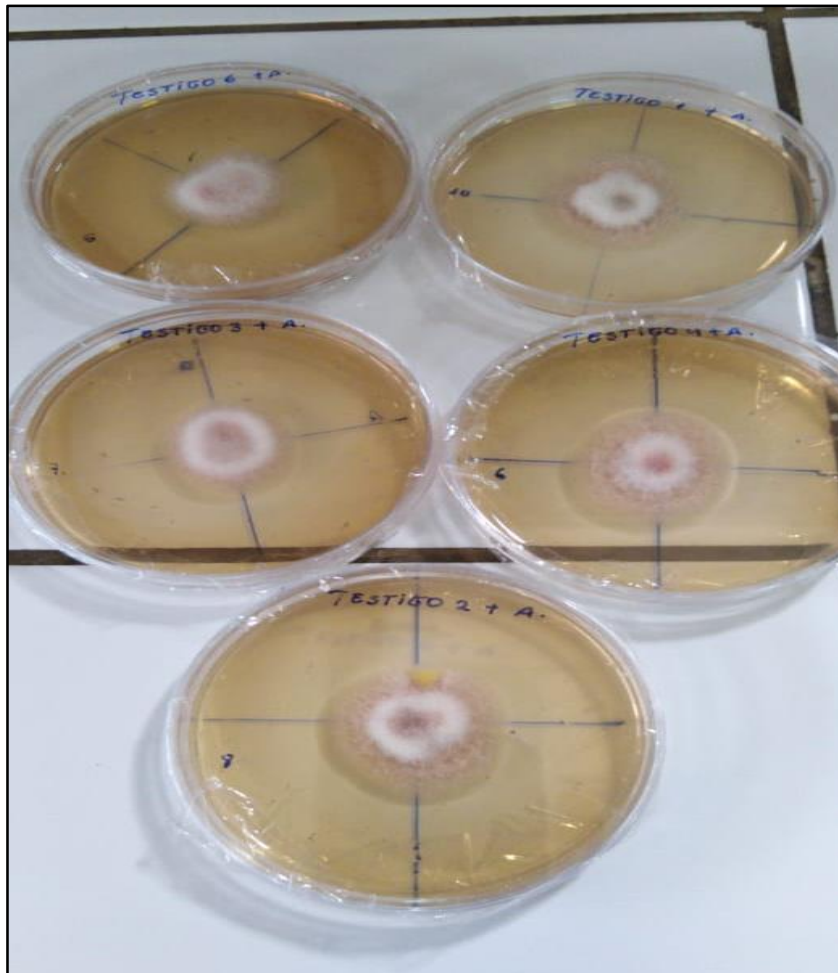
## Anexo 12: Prueba piloto.



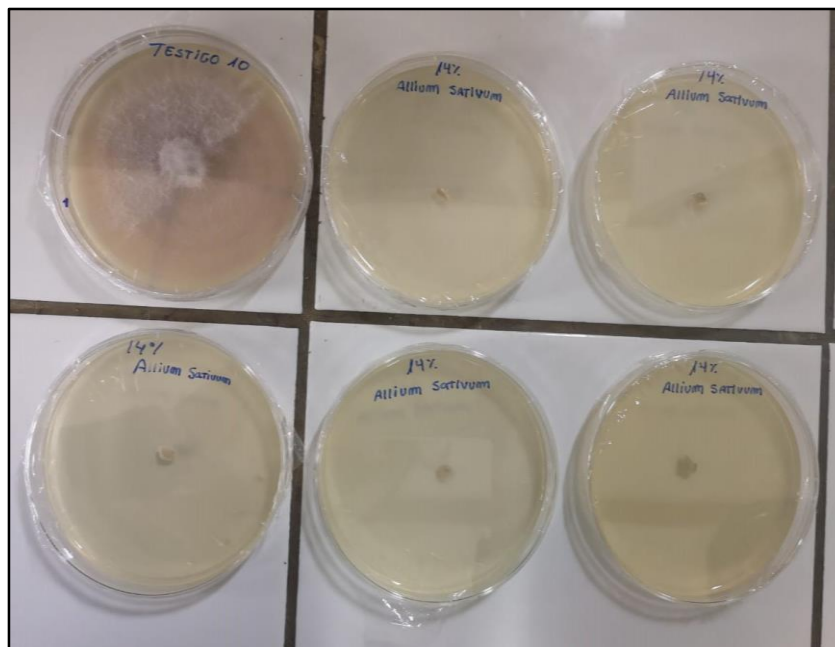
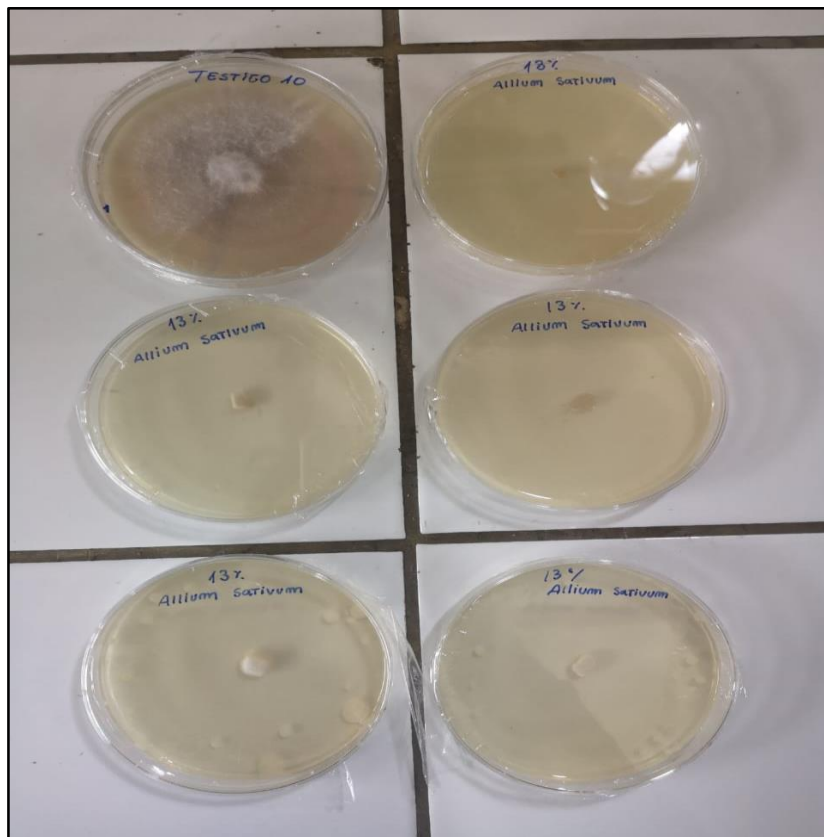
Anexo 13: Hoja de observación de la prueba piloto.

Hoja de observación - Laboratorio (Cálculo de inhibición del crecimiento micelial %)																Fecha: 04/02/19 - 05/02/19 - 06/02/19				
"Eficiencia de extractos etanólicos de vegetales para el control in vitro del hongo fitopatógeno ( <i>Fusarium verticillioides</i> ), Lima - 2019"																				
Extracto etanólico de ajos ( <i>Allium sativum</i> )																				
N° de repeticiones	TESTIGO			5%			10%			15%			20%			25%				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3		
1	28.17	47.13	76.15	51.47	58.07	49.4	70.14	70.88	78.48	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
2	23.84	29.93	51.82	45.72	46.14	39.65	100	100	81.97	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
3	37.26	53.84	65.18	71.47	67.29	40.07	80.78	82.29	79.73	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Extracto etanólico de cebolla ( <i>Allium cepa</i> )																				
N° de repeticiones	TESTIGO			5%			10%			15%			20%			25%				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3		
1	28.17	47.13	76.15	45.22	69.23	74.69	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
2	23.84	29.93	51.82	39.29	42.16	54.59	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
3	37.26	53.84	65.18	58.8	52.73	56.84	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Extracto etanólico de jengibre ( <i>Zingiber officinale</i> )																				
N° de repeticiones	TESTIGO			5%			10%			15%			20%			25%				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3		
1	28.17	47.13	76.15	59.67	69.17	77.04	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
2	23.84	29.93	51.82	44.25	46.44	59.32	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
3	37.26	53.84	65.18	65.19	68.77	70.26	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

**Anexo 14:** Crecimientos de medios testigos sin tratamientos.

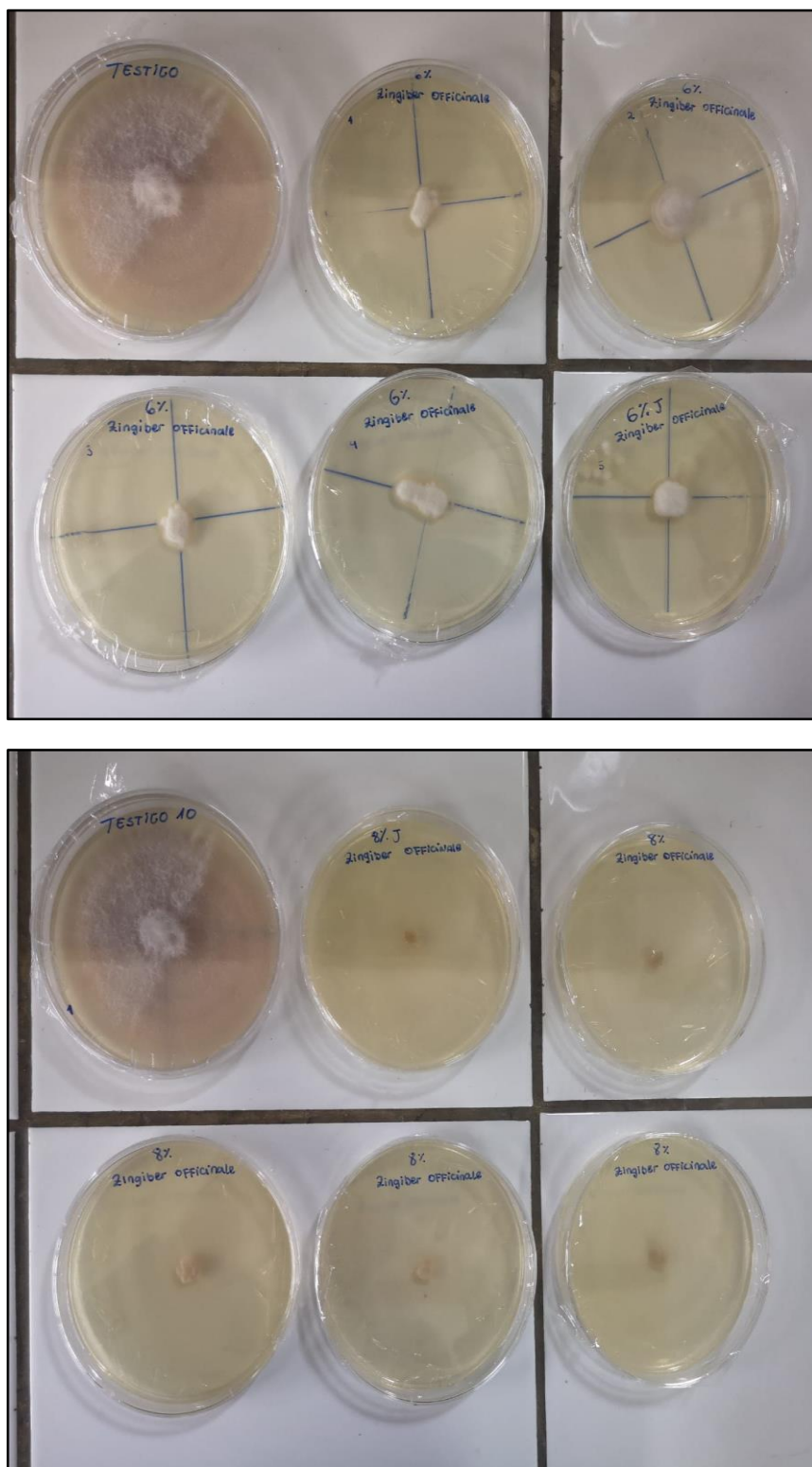


Anexo 15: Control del Extracto etanólico del *Allium sativum* en *Fusarium verticillioides*.

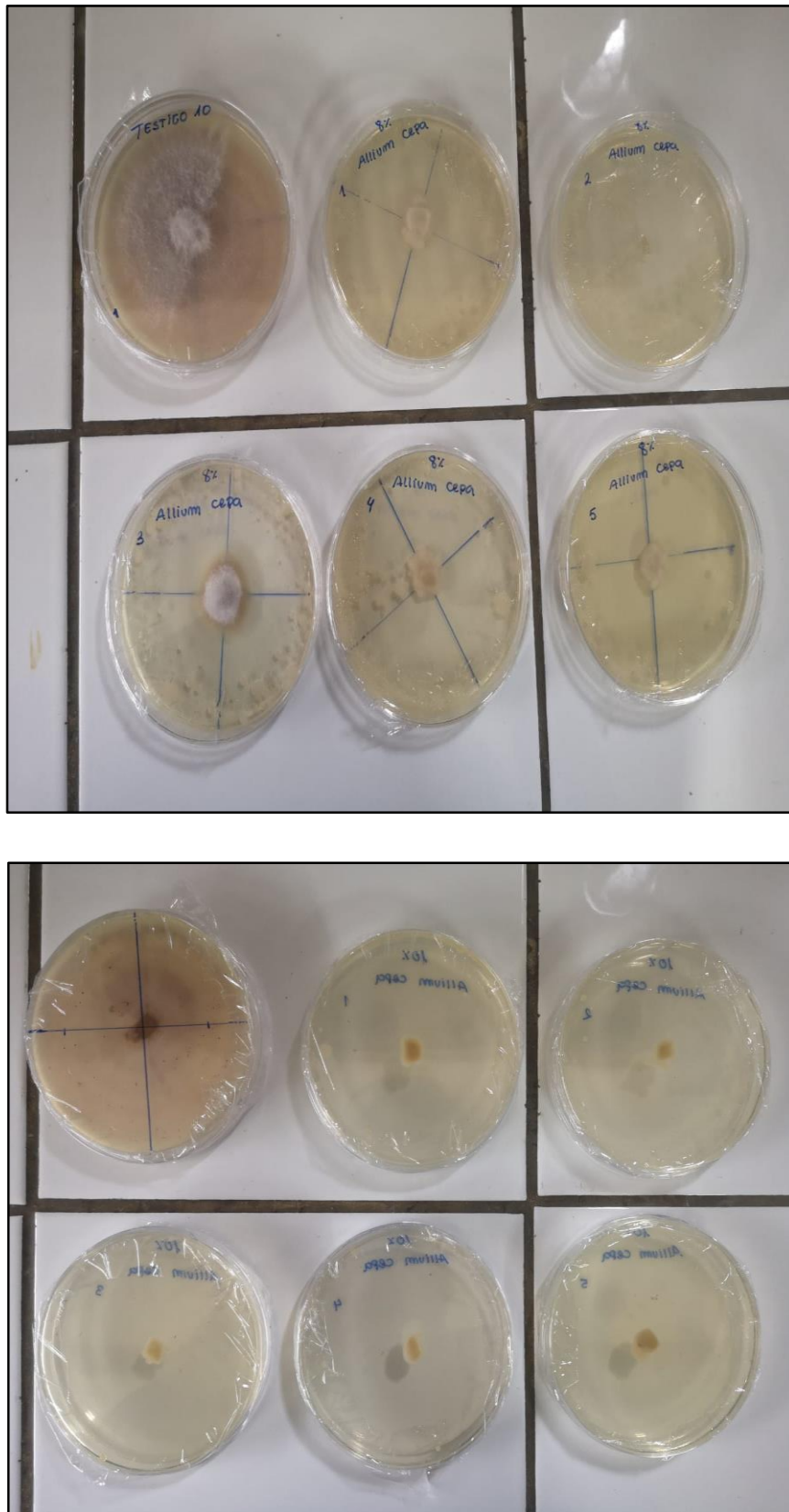




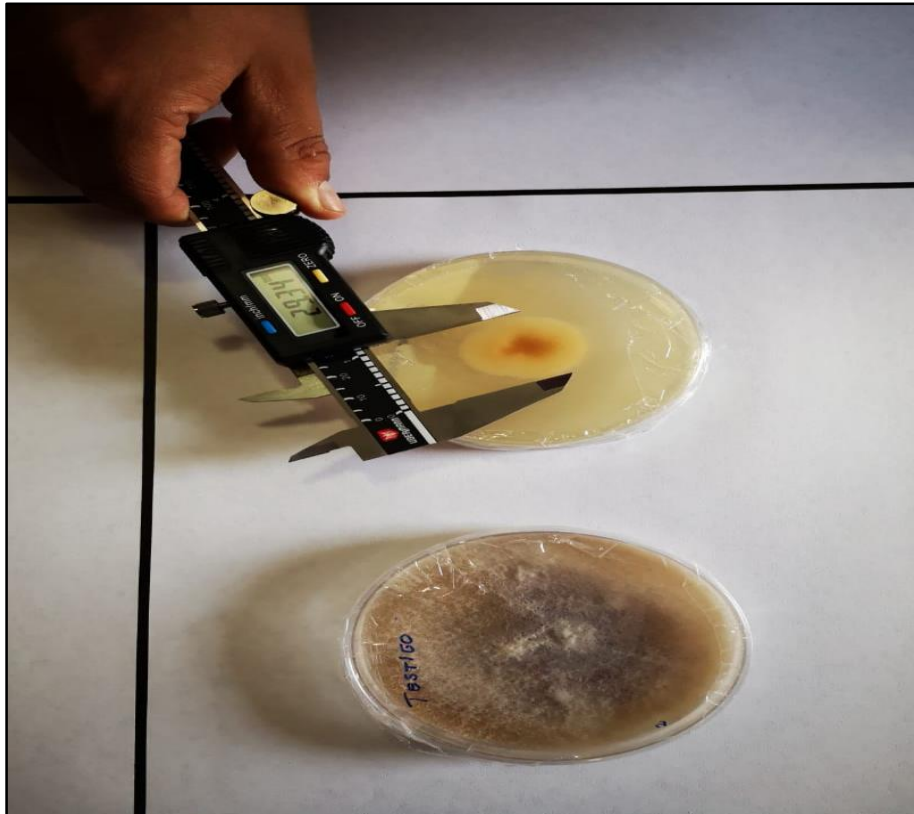
**Anexo 16:** Control del Extracto etanólico del *Zingiber officinale* en *Fusarium verticillioides*.



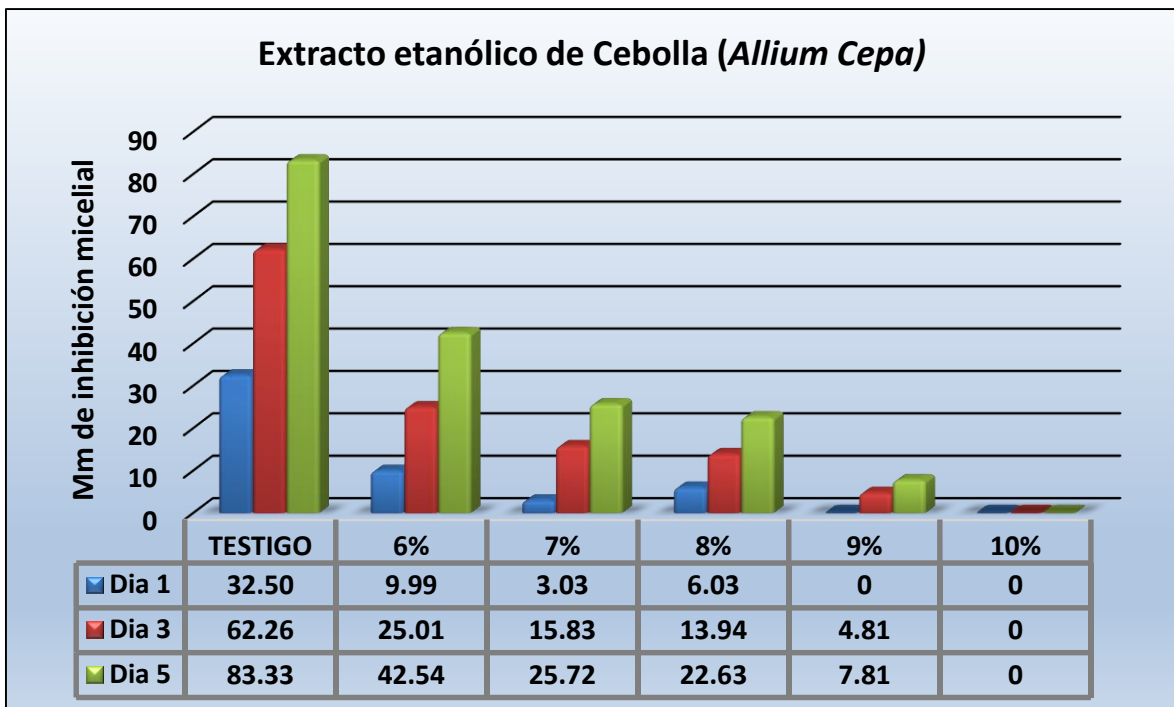
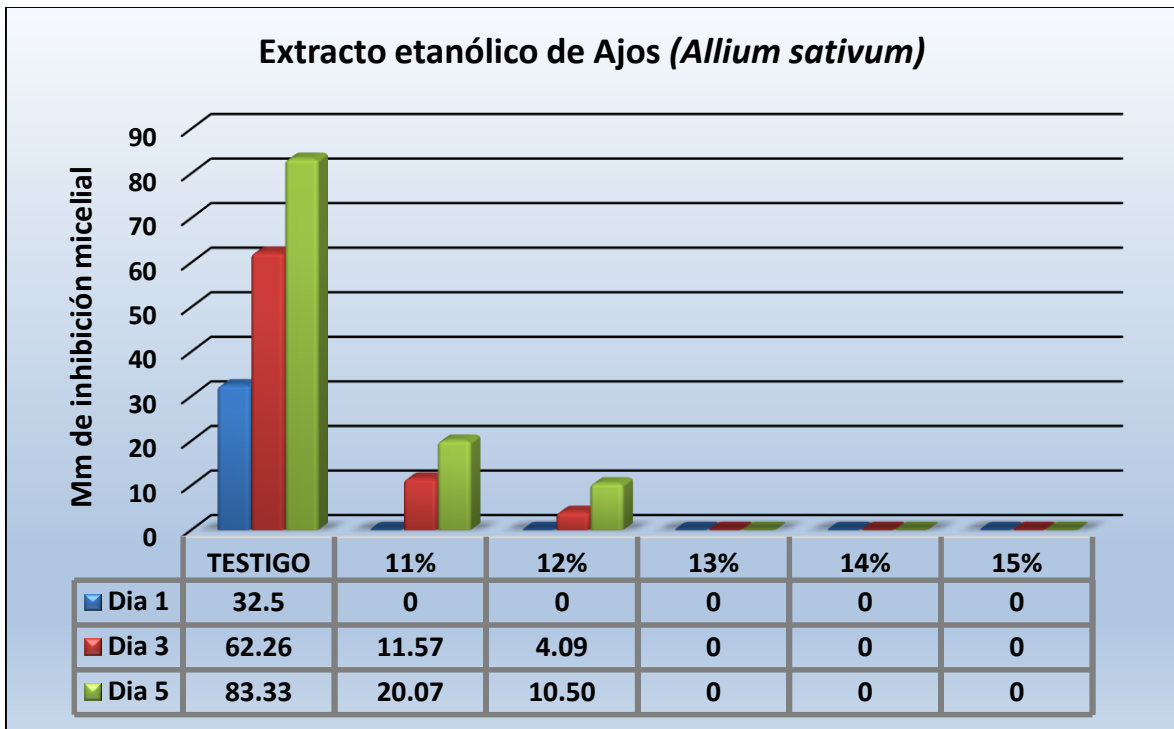
Anexo 17: Control del Extracto etanólico del *Allium cepa* en *Fusarium verticillioides*.



**Anexo 18:** Mediciones del crecimiento micelial de los fitopatógenos en el medio envenenado.

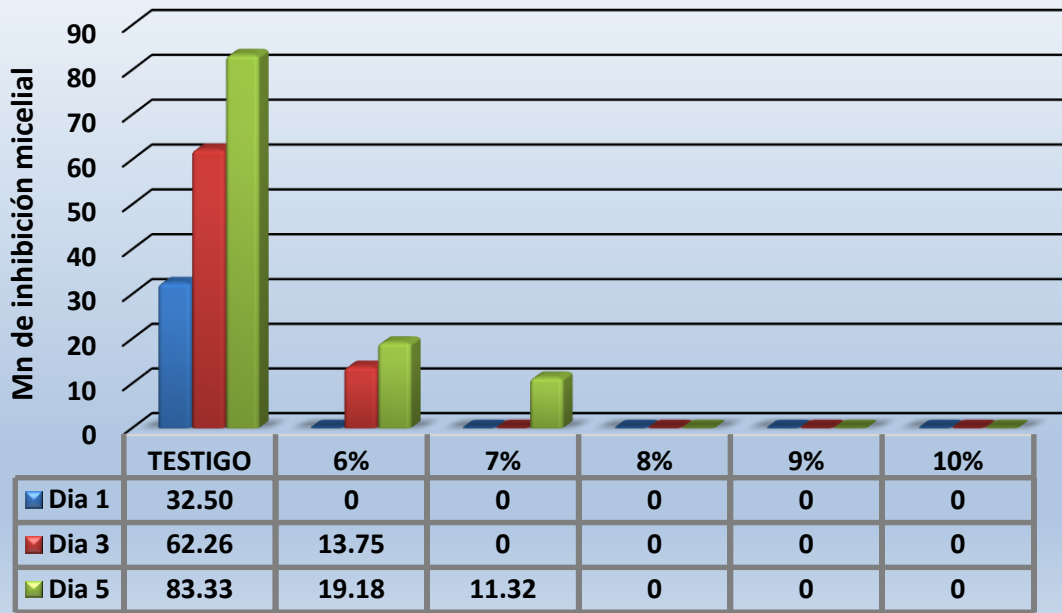


**Anexo 19:** Histogramas de promedios del crecimiento micelial en milímetros del *F. verticillioides* en los diferentes EEV, dosis y días.

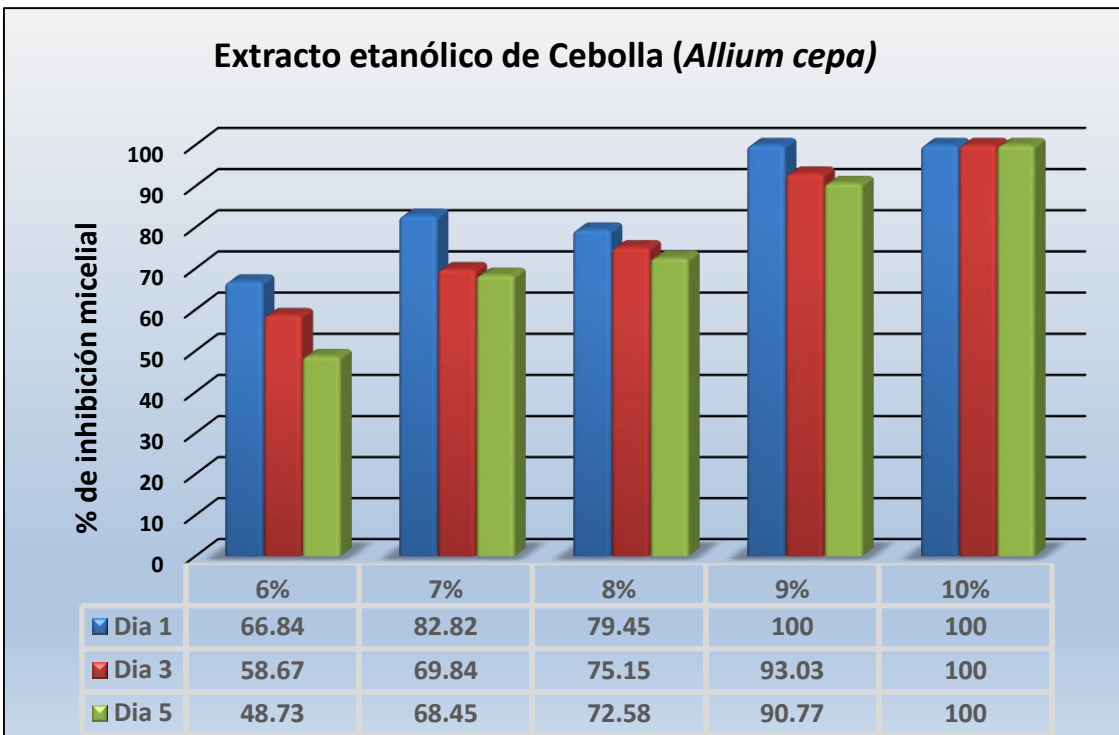
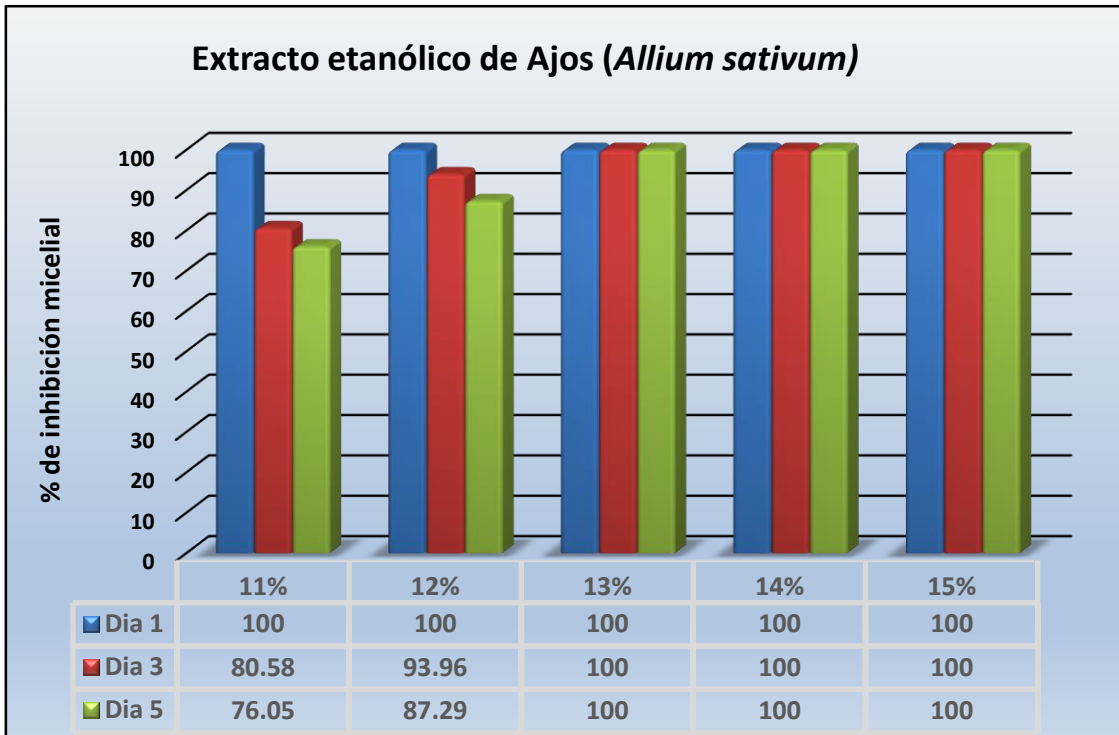




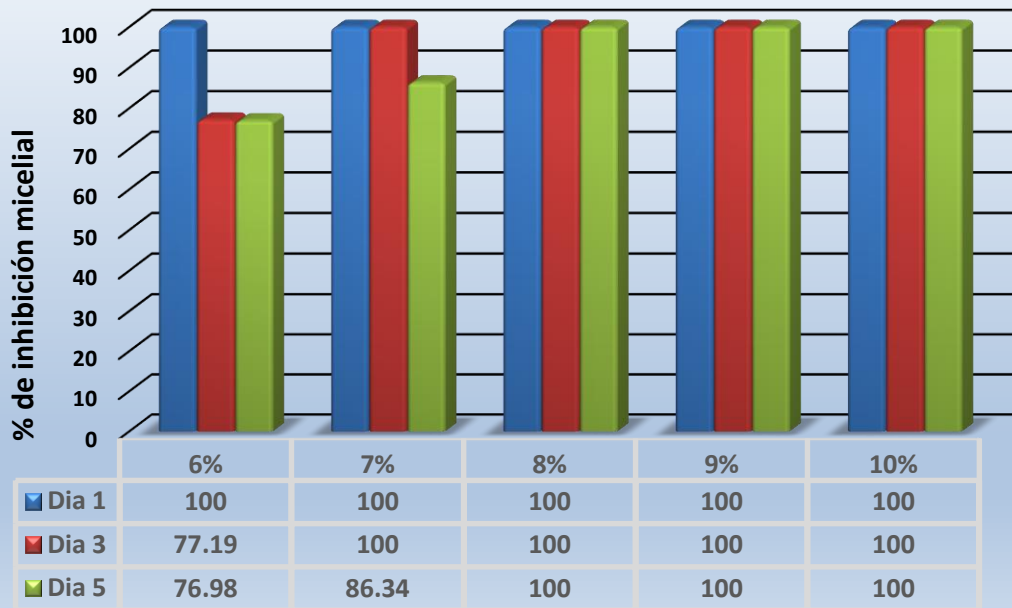
### Extracto etanólico de Jengibre (*Zingiber Officinale*)



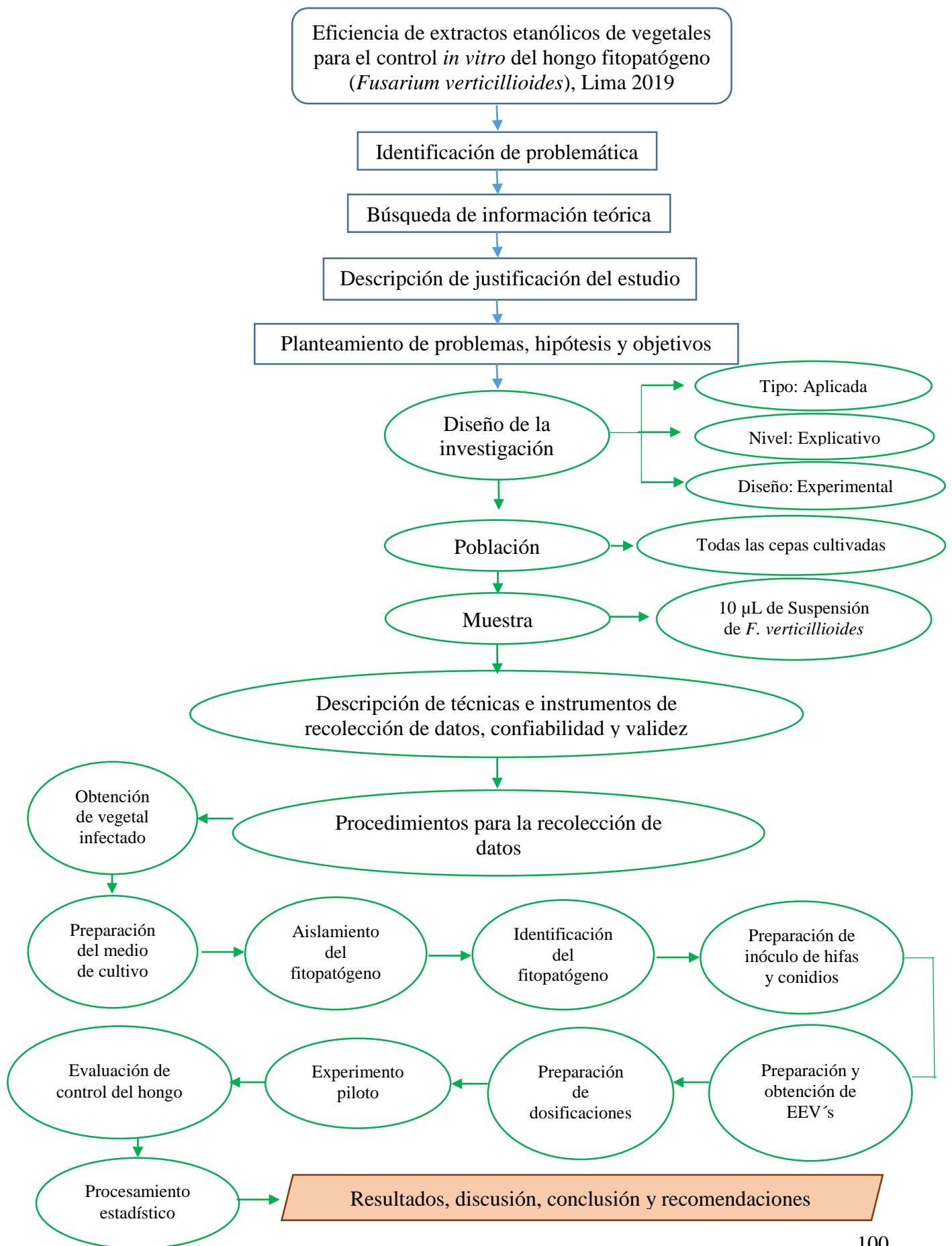
**Anexo 20:** Histogramas de promedios de porcentaje de inhibición en el crecimiento micelial del *F. verticillioides* en los diferentes EEV, dosis y días.




### Extracto etanólico de Jengibre (*Zingiber Officinale*)



**Anexo 21:** Diagrama de flujo de la investigación.



 <b>UCV</b> UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO	<b>ACTA DE APROBACIÓN DE ORIGINALIDAD          DE TESIS</b>	Código : F06-PP-PR-02.02
		Versión : 10
		Fecha : 10-06-2019
		Página : 1 de 1

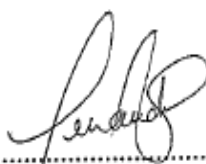
Yo, Fernando Antonio Semaqué Auccahuasi, docente de la Facultad Ingeniería y Escuela Profesional Ingeniería Ambiental de la Universidad César Vallejo Lima Este, revisor (a) de la tesis titulada

"Eficiencia de extractos etanólicos de vegetales para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima - 2019".

Del estudiante, Luis Santiago Solis Aquino, constato que la investigación tiene un índice de similitud de 14...% verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin.

El/la suscrito (a) analizó dicho reporte y concluyó que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.


San Juan de Lurigancho, 08 de julio del 2019



Mg. Fernando Antonio Semaqué Auccahuasi

DNI: 07268863

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Representante de la Dirección / Vicerrectorado de Investigación y Calidad	Aprobó	Rectorado
---------	----------------------------	--------	---	--------	-----------

 <b>UCV</b> UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO	<b>ACTA DE APROBACIÓN DE ORIGINALIDAD          DE TESIS</b>	Código : F06-PP-PR-02.02 Versión : 10 Fecha : 10-06-2019 Página : 1 de 1
--	---	---

Yo, Fernando Antonio Semaqué Auccahuasi, docente de la Facultad Ingeniería y Escuela Profesional Ingeniería Ambiental de la Universidad César Vallejo Lima Este, revisor (a) de la tesis titulada

"Eficiencia de extractos etanólicos de vegetales para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima - 2019".

De la estudiante, Ana Gabriela Apaza Lopez, constato que la investigación tiene un índice de similitud de 1.4...% verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin.

El/la suscrito (a) analizó dicho reporte y concluyó que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

San Juan de Lurigancho, 08 de julio del 2019



Mg. Fernando Antonio Semaqué Auccahuasi

DNI: 07268863

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Representante de la Dirección / Vicerrectorado de Investigación y Calidad	Aprobó	Rectorado
---------	----------------------------	--------	---	--------	-----------

**UNIVERSIDAD CESAR VALLEJO**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA**  
**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

"Eficiencia de extractos cutáneos de vegetales para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima - 2019"

**TESIS**

**AUTORES:**

Ana Gabriela, Apaza Lopez  
(0000-0003-0541-8820)  
Luis Santiago, Solís Aquino  
(0000-0002-9864-4271)

**ASESOR:**

Mg. Fernando Antonio Sernaquí Ancehualsi  
(0000-0003-1495-5854)

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN**

**Resumen de coincidencias**

**14 %**

Se están viendo fuentes estándar

Ver fuentes en inglés (Beta)

**Coincidencias**

1	Entregado a Universid...	1 %
2	www.prof.prof.org.pe	1 %
3	Repositorio Univ. Edu. de	1 %
4	Repositorio espe. edu. de	1 %
5	dspace.ups.edu.ec	1 %
6	alicia.concytec.gob.pe	1 %
7	Mg. Eugenia de la Torre	1 %
8	www.revista.phytos.fu...	1 %
	Entregado a Universid...	1 %





**AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE TESIS  
EN REPOSITORIO INSTITUCIONAL UCV**

Código : F08-PP-PR-02.02  
Versión : 10  
Fecha : 10-06-2019  
Página : 1 de 1

Yo Luis Santiago Solís Aquino, identificado con DNI N° 76188367, egresado de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental de la Universidad César Vallejo, autorizo (X). No autorizo ( ) la divulgación y comunicación pública de mi trabajo de investigación titulado

"Eficiencia de extractos etanólicos de vegetales para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima - 2019", en el Repositorio Institucional de la UCV (<http://repositorio.ucv.edu.pe/>), según lo estipulado en el Decreto Legislativo 822, Ley sobre Derecho de Autor, Art. 23 y Art. 33

Fundamentación en caso de no autorización:

.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....

  
Luis Santiago, Solís Aquino

DNI: 76188367

FECHA: 08 de julio del 2019

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Representante de la Dirección / Vicerrectorado de Investigación y Calidad	Aprobó	Rectorado
---------	----------------------------	--------	---	--------	-----------



 <b>UCV</b> UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO	<b>AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE TESIS          EN REPOSITORIO INSTITUCIONAL UCV</b>	Código : F08-PP-PR-02.02
		Versión : 10
		Fecha : 10-06-2019
		Página : 1 de 1

Yo Ana Gabriela Apaza Lopez, identificado con DNI N° 77160891, egresada de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental de la Universidad César Vallejo, autorizo (X). No autorizo ( ) la divulgación y comunicación pública de mi trabajo de investigación titulado

"Eficiencia de extractos etanólicos de vegetales para el control *in vitro* del hongo fitopatógeno (*Fusarium verticillioides*), Lima - 2019", en el Repositorio Institucional de la UCV (<http://repositorio.ucv.edu.pe/>), según lo estipulado en el Decreto Legislativo 822, Ley sobre Derecho de Autor, Art. 23 y Art. 33

Fundamentación en caso de no autorización:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

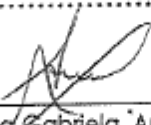
.....

.....

.....

.....

.....

  
 Ana Gabriela, Apaza Lopez  
 DNI: 77160891  
 FECHA: 08 de julio del 2019

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Representante de la Dirección / Vicerrectorado de Investigación y Calidad	Aprobó	Rectorado
---------	----------------------------	--------	---	--------	-----------



# UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

## AUTORIZACIÓN DE LA VERSIÓN FINAL DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

CONSTE POR EL PRESENTE EL VISTO BUENO QUE OTORGA EL ENCARGADO DE INVESTIGACIÓN DE

MG. FERNANDO ANTONIO SERNAQUÉ AUCCAHUASI

A LA VERSIÓN FINAL DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA:

LUIS SANTIAGO SOLIS AQUINO

INFORME TÍTULADO:

EFICIENCIA DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE VEGETALES PARA EL CONTROL IN VITRO DEL HONGO FITOPATÓGENO (FUSARIUM VERTICILLIOIDES), LIMA - 2019.

PARA OBTENER EL TÍTULO O GRADO DE:

INGENIERO AMBIENTAL

SUSTENTADO EN FECHA: 08 DE JULIO DEL 2019.

NOTA O MENCIÓN: DIEGOCHO (18)



MG. FERNANDO A. SERNAQUÉ AUCCAHUASI



# UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

## AUTORIZACIÓN DE LA VERSIÓN FINAL DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

CONSTE POR EL PRESENTE EL VISTO BUENO QUE OTORGA EL ENCARGADO DE INVESTIGACIÓN DE

MG. FERNANDO ANTONIO SERNAQUÉ AUCCAHUASI

A LA VERSIÓN FINAL DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA:

ANA GABRIELA APAZA LOPEZ

INFORME TITULADO:

EFICIENCIA DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE VEGETALES PARA EL CONTROL IN VITRO DEL HONGO FITOPATÓGENO (FUSARIUM VERTICILLIOIDES), LIMA - 2019.

PARA OBTENER EL TÍTULO O GRADO DE:

INGENIERA AMBIENTAL

SUSTENTADO EN FECHA: 08 DE JULIO DEL 2019.

NOTA O MENCIÓN: Distinción (18)



MG. FERNANDO A. SERNAQUÉ AUCCAHUASI