

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
CENTRO UNIVERSITARIO DEL NORTE  
CARRERA DE AGRONOMÍA

TRABAJO DE GRADUACIÓN



EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA DE 12  
EXTRACTOS VEGETALES SOBRE EL CRECIMIENTO *in vitro*  
DE LOS HONGOS FITOPATÓGENOS: *Fusarium oxysporum* y  
*Alternaria solani*, EN COBÁN, ALTA VERAPAZ

EUNICE LISSETTE PAX CUCUL

COBÁN, ALTA VERAPAZ, SEPTIEMBRE DE 2015



**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
CENTRO UNIVERSITARIO DEL NORTE  
CARRERA DE AGRONOMÍA**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA DE 12  
EXTRACTOS VEGETALES SOBRE EL CRECIMIENTO *in vitro*  
DE LOS HONGOS FITOPATÓGENOS: *Fusarium oxysporum* y  
*Alternaria solani*, EN COBÁN, ALTA VERAPAZ**

**PRESENTADO AL HONORABLE CONSEJO DIRECTIVO DEL  
CENTRO UNIVERSITARIO DEL NORTE**

**POR**

**EUNICE LISSETTE PAX CUCUL  
CARNÉ 200940301**

**COMO REQUISITO PREVIO A OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERA  
AGRÓNOMA EN EL GRADO ACADÉMICO DE  
LICENCIADA EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**COBÁN, ALTA VERAPAZ, SEPTIEMBRE DE 2015**



## **AUTORIDADES UNIVERSITARIAS**

### **RECTOR MAGNÍFICO**

Dr. Carlos Vinicio Alvarado Cerezo

### **CONSEJO DIRECTIVO**

PRESIDENTE:	Lic. Zoot. M.A. Fredy Giovani Macz Choc
SECRETARIA:	Licda. T.S. Floricelda Chiquin Yoj
REPRESENTANTE DOCENTE:	Ing. Geol. César Fernando Monterroso Rey
REPRESENTANTE EGRESADOS:	Ing. Agr. Julio Oswaldo Méndez Morales
REPRESENTANTES ESTUDIANTILES:	PEM. César Oswaldo Bol Cú Br. Fredy Enrique Gereda Milián

### **COORDINADOR ACADÉMICO**

Lic. Zoot. Erwin Gonzalo Eskenasy Morales

### **COORDINADOR DE LA CARRERA**

Ing. Agr. Mae. David Salomón Fuentes Guillermo

### **COMISIÓN DE TRABAJOS DE GRADUACIÓN**

COORDINADOR:	Ing. Agr. MSc. Ángel Arce Canahuí
SECRETARIO:	Ing. Agr. M.A. Edgar Armando Ruiz Cruz
VOCAL:	Ing. Agr. Mae. David Salomón Fuentes Guillermo

### **REVISOR DE REDACCIÓN Y ESTILO**

Ing. Civil MSc. Julio Enrique Reynosa Mejía

### **REVISOR DE TRABAJO DE GRADUACIÓN**

Ing. Agr. Mae. David Salomón Fuentes Guillermo

### **ASESOR**

Ing. Agr. MSc. Rodolfo Antonio Reyes Villatoro





**USAC**  
**TRICENTENARIA**  
Universidad de San Carlos de Guatemala  
CENTRO UNIVERSITARIO DEL NORTE

Cobán, A.V., 17 de agosto de 2015.

Ref.: 15-A-190/2015.

Señores:

Miembros de la Comisión de Trabajos de Graduación  
Carrera de Agronomía  
Centro Universitario del Norte –CUNOR–

Respetables Señores:

Me dirijo a ustedes para informarles que he revisado el trabajo de graduación titulado “**Evaluación de la actividad Inhibitoria de 12 extractos vegetales sobre el crecimiento *in vitro* de los hongos Fitopatógenos: *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani*, en Cobán, Alta Verapaz**”, elaborado por la estudiante **Eunice Lissette Pax Cucul**.

A mi criterio dicho trabajo cumple con las observaciones realizadas por la terna en la presentación oral de Seminario II, lo indicado en el acta que levantó la terna, así como las sugerencias y anotaciones que le hacen en los documentos que presentó.

En tal sentido, por este medio doy el aval al trabajo que he asesorado, para que continúe con el trámite respectivo.

Atentamente,



**Id y enseñad a todos**

Ing. Agr. Rodolfo Antonio Reyes Villaloro  
Asesor Principal.

c.c. archivo





Ref. 15-A-189/2015  
Cobán, A.V., 17 de agosto 2015

Señores:  
Miembros de la Comisión de Trabajos de Graduación  
Carrera de Agronomía  
Centro Universitario del Norte -CUNOR-

Señores:

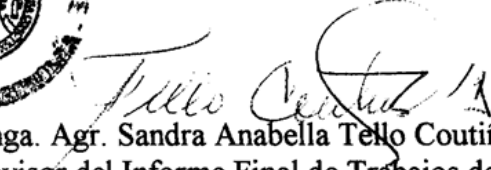
Por este medio me permito informar que la **T.U. Eunice Lissette Pax Cucul**, si incorporó a su informe final de Trabajo de Graduación las correcciones y sugerencias que se le mandaron hacer en el documento y en la presentación del Seminario II.

Con base a lo anterior, se recomienda que dicho trabajo continúe con el trámite respectivo.

Atentamente,



**Id y enseñad a todos**

  
Inga. Agr. Sandra Anabella Tello Coutiño de Argueta  
Revisor del Informe Final de Trabajos de Graduación y  
Presidente Terna Evaluadora Seminario II  
Carrera Agronomía

c.c. archivo





**USAC**  
**TRICENTENARIA**  
Universidad de San Carlos de Guatemala  
CENTRO UNIVERSITARIO DEL NORTE

Ref. 15-A-197/2015  
Cobán, A.V., 01 de septiembre de 2015

Señores  
Comisión de Trabajos de Graduación  
Carrera Agronomía  
CUNOR

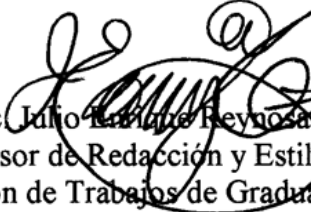
Señor Director:

Por este medio me permito informar que he revisado el trabajo de graduación presentado por el T.U. **Eunice Lisette Pax Cucul**, titulado “**Evaluación de la actividad Inhibitoria de 12 extractos vegetales sobre el crecimiento *in vitro* de los hongos Fitopatógenos: *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani*, en Cobán, Alta Verapaz**”, y después de corroborar que se hicieron las observaciones formuladas, me permito dictaminar que dicho trabajo es satisfactorio en cuanto a las normas de redacción y estilo y puede continuar con el trámite respectivo.

Atentamente,



**Id y enseñad a todos**

  
M.Sc. Julio Enrique Reynosa Mejía  
Revisor de Redacción y Estilo  
Comisión de Trabajos de Graduación  
Carrera de Agronomía - CUNOR

c.c. archivo





**USAC**  
**TRICENTENARIA**  
Universidad de San Carlos de Guatemala  
CENTRO UNIVERSITARIO DEL NORTE

Ref. 15-A-198/2015  
01 de septiembre de 2015

Licenciado:  
Fredy Giovanni Macz Choc  
Director del CUNOR  
Edificio.

Señor Director:

Por este medio me permito informar que después de haber sido revisado y evaluado por el Asesor, el Revisor de Informes Finales y el Revisor de Redacción y Estilo, la Comisión de Trabajos de Graduación, emite su dictamen favorable para que el trabajo de graduación de la T.U. **Eunice Lissette Pax Cucul**, titulado: **“Evaluación de la actividad Inhibitoria de 12 extractos vegetales sobre el crecimiento *in vitro* de los hongos Fitopatógenos: *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani*, en Cobán, Alta Verapaz”**, siga el trámite correspondiente a efecto se autorice el Imprimase.

Atentamente,



Id y enseñad a todos

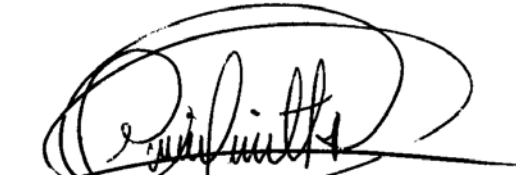
Agronomía Ing. Agr. Angel Arce Canahú  
Presidente Comisión Trabajos de Graduación  
Carrera Agronomía -CUNOR-

c.c. archivo



## HONORABLE COMITÉ EXAMINADOR

En cumplimiento a lo establecido por los estatutos de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a consideración de ustedes el trabajo de graduación titulado: Evaluación de la actividad inhibitoria de 12 extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de los hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani*, en Cobán, Alta Verapaz, como requisito previo a optar el título profesional de Ingeniera Agrónoma en el grado académico de Licenciada en Ciencias Agrícolas.



Eunice Lissette Pax Cucul  
Carné No. 200940301





## **RESPONSABILIDAD**

“La responsabilidad del contenido de los trabajos de graduación es del estudiante que opta al título, del asesor y del revisor, la Comisión de Redacción y Estilo de cada carrera, es la responsable de la estructura y la forma “.

Aprobado en punto SEGUNDO, inciso 2.4, subinciso 2.4.1 del Acta No. 17-2012 de Sesión extraordinaria del Consejo Directivo de fecha 18 de julio del año 2012.



## **DEDICATORIA A:**

- DIOS** Por ser la luz que guía y guarda mi sendero.
- MIS PADRES** Que este logro sea motivo de orgullo y muestra de agradecimiento por todo su esfuerzo, sacrificio y enseñanzas que me han brindado.
- MIS HERMANAS** Guadalupe, Nelly, Abril y Gabriela que son la mayor bendición que Dios me ha dado.



## **AGRADECIMIENTOS**

Principalmente a Dios por darme la bendición de concluir esta meta, además de brindarme su amor y protección en todo momento.

A mis padres por sus consejos, cariño y apoyo incondicional que me llenan de fuerza para seguir adelante.

A mis hermanas por sus palabras de aliento, compañía y sobre todo gracias por escucharme y ayudarme cuando lo necesito.

A Beatriz, Marlen, Helen, Heydi y Julio por brindarme su amistad sincera y permanecer a mi lado sin importar cuanto pase el tiempo. Y a mí cuñado Frankling que siempre ha estado anuente a apoyarme.

Al Ing. Reyes que fue una ayuda importante en la realización de este trabajo como asesor, docente y amigo. También al Ing. Reynosa, Inga. Tello e Inga. Lisbeth gracias por todas sus enseñanzas, apoyo y compartir conmigo su valiosa amistad.

Y a mis docentes de la carrera de Agronomía por todos los conocimientos brindados y por su compromiso con la formación de nuevos profesionales.



## ÍNDICE GENERAL

	<b>Página</b>
RESUMEN	xi
INTRODUCCIÓN	1
DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	3
JUSTIFICACIÓN	4
OBJETIVOS	6
HIPÓTESIS	7

### **CAPÍTULO 1 MARCO TEÓRICO**

1.1. Antecedentes	9
1.2. Revisión bibliográfica	11
1.2.1. Hongos fitopatógenos	11
a. Morfología	11
b. Reproducción	12
c. Ecología y diseminación	13
d. Clasificación	14
e. Ciclo de vida	14
1.2.2. <i>Alternaria solani</i>	15
a. Clasificación	15
b. Características morfológicas	15
c. Hospederos	16
d. Enfermedades que produce	16
e. Síntomas y signos	16
f. Ciclo de la enfermedad	17
g. Control	17
1.2.3. <i>Fusarium oxysporum</i>	18
a. Clasificación	18
b. Características morfológicas	18
c. Hospederos	18
d. Enfermedades que produce	19
e. Síntomas y signos	19
f. Ciclo de la enfermedad	20
g. Control	20
1.2.4. Material vegetal	21
a. Anona colorada ( <i>Annona reticulata</i> )	21

b. Anona rosada ( <i>Annona diversifolia</i> )	23
c. Anona verde ( <i>Annona squamosa</i> )	25
d. Neem ( <i>Azadirachta indica</i> )	27
e. Apazote ( <i>Chenopodium ambrosioides</i> )	29
f. Cola de caballo ( <i>Equisetum giganteum</i> )	31
g. Madre cacao ( <i>Gliricidia sepium</i> )	33
h. Salvia Santa ( <i>Lippia alba</i> )	35
i. Llantén ( <i>Plantago major</i> )	37
j. Higuierillo ( <i>Ricinus comunis</i> )	39
k. Escobillo ( <i>Sida rhombifolia</i> )	41
1.2.5. Extractos vegetales	43
a. Factores que afectan el proceso extractivo	44
b. Métodos de extracción	45
c. Tipos de extractos	46

## **CAPÍTULO 2 METODOLOGÍA**

2.1. Ubicación del experimento	49
2.2. Descripción del laboratorio	49
2.3. Recolección del material vegetal para la obtención de extractos	49
2.4. Preparación de los extractos vegetales	51
2.4.1. Limpieza	51
2.4.2. Secado	51
2.4.3. Elaboración de la tintura	52
2.4.4. Filtrado	52
2.4.5. Almacenado	53
2.5. Aislamiento y purificación de cultivos <i>in vitro</i> de los hongos fitopatógenos	53
2.5.1. Preparación del medio de aislamiento	53
2.5.2. Aislamiento y siembra	54
2.5.3. Obtención de los cultivos puros	56
2.6. Evaluación de la tolerancia de los hongos fitopatógenos al alcohol etílico	57
2.7. Montaje del experimento	59
2.7.1. Preparación del medio de cultivo	59
2.7.2. Preparación del inóculo	59
2.7.3. Inoculación del hongo	60
2.7.4. Interpretación de resultados	61
2.8. Diseño experimental	61
2.8.1. Tratamientos y tamaño del experimento	61
2.8.2. Modelo estadístico	62
2.8.3. Variable respuesta	63
2.8.4. Análisis experimental	64
2.9. Recursos	65
2.9.1. Equipo	65
2.9.2. Reactivos	65
2.9.3. Instrumentos, cristalería y materiales	65



**CAPÍTULO 3**  
**PRESENTACIÓN, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

Efecto de los extractos vegetales en <i>Fusarium oxysporum</i>	67
Efecto de los extractos vegetales en <i>Alternaria solani</i>	86
Discusión general	107
CONCLUSIONES	113
RECOMENDACIONES	115
BIBLIOGRAFÍA	117
ANEXOS	121

## ÍNDICE DE CUADROS

	<b>Página</b>
1 PLANTAS CON ACCIÓN ANTIFÚNGICA IDENTIFICADA	10
2 LISTADO DE PLANTAS SELECCIONADAS	50
3 TRATAMIENTOS	
4 ANÁLISIS DE VARIANZA DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Fusarium oxysporum</i> EN PLACAS AL 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % Y 3,125 % DE ALCOHOL ETÍLICO, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	62
5 PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Fusarium oxysporum</i> EN PLACAS AL 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % Y 3,125 % DE ALCOHOL ETÍLICO, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	67
6 ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL ETÍLICO AL 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % Y 3,125 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE <i>Fusarium oxysporum</i> , 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	68
7 PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL ETÍLICO AL 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % Y 3,125 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE <i>Fusarium oxysporum</i> , 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	69
8 ANÁLISIS DE VARIANZA DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Fusarium oxysporum</i> EN PLACAS AL 3,5 %; 3,0 %; 2,5 %; 2,0 %; 1,5 %; 1,0 % Y 0,5 % DE ALCOHOL ETÍLICO, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	70
9 PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Fusarium oxysporum</i> EN PLACAS AL 3,5 %; 3,0 %; 2,5 %; 2,0 %; 1,5 %; 1,0 % Y 0,5 % EN DE ALCOHOL ETÍLICO, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	71

10	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL ETÍLICO AL 3,5 %; 3,0 %; 2,5 %; 2,0 %; 1,5 %; 1,0 % Y 0,5 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE <i>Fusarium oxysporum</i> , 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	72
11	PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL ETÍLICO AL 3,5 %; 3,0 %; 2,5 %; 2,0 %; 1,5 %; 1,0 % Y 0,5 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE <i>Fusarium oxysporum</i> , 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	72
12	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Fusarium oxysporum</i> EN PLACAS AL 2,5 % DE EXTRACTO VEGETAL, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	74
13	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL ETÍLICO AL 2,5 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE <i>Fusarium oxysporum</i> , 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	74
14	PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Fusarium oxysporum</i> EN PLACAS AL 2,5 % DE EXTRACTO VEGETAL, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	75
15	PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL ETÍLICO AL 2,5 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE <i>Fusarium oxysporum</i> , 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	76
16	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Fusarium oxysporum</i> EN PLACAS AL 2,0 %; 3,0 %; 4,0 %; 5,0 %; 6,0 %; 7,0 % Y 8,0 % DE EXTRACTO VEGETAL, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	78
17	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN POR EFECTO DE EXTRACTOS VEGETALES AL 2,0 %; 3,0 %; 4,0 %; 5,0 %; 6,0 %; 7,0 % Y 8,0 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE <i>Fusarium oxysporum</i> , 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	78

18	PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Fusarium oxysporum</i> EN PLACAS POR EFECTO DEL EXTRACTO VEGETAL; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	79
19	PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL DESARROLLO MICELIAL DE <i>Fusarium oxysporum</i> POR EFECTO DEL EXTRACTO VEGETAL; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	80
20	PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Fusarium oxysporum</i> EN PLACAS POR EFECTO DE LA DOSIS; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	81
21	PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL DESARROLLO MICELIAL DE <i>Fusarium oxysporum</i> POR EFECTO DE LA DOSIS; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	82
22	PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Fusarium oxysporum</i> EN PLACAS POR EFECTO DE LA INTERACCIÓN ENTRE EL EXTRACTO Y LA DOSIS; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	83
23	PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL DESARROLLO MICELIAL DE <i>Fusarium oxysporum</i> POR EFECTO DE LA INTERACCIÓN ENTRE EL EXTRACTO VEGETAL Y LA DOSIS; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	83
24	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Alternaria solani</i> EN PLACAS AL 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % Y 3,125 % DE ALCOHOL ETÍLICO, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	86
25	PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Alternaria solani</i> EN PLACAS AL 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % Y 3,125 % DE ALCOHOL ETÍLICO, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	87
26	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL ETÍLICO AL 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % Y 3,125 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE <i>Alternaria solani</i> , 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN ; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	88

27	PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL ETÍLICO AL 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % Y 3,125 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE <i>Alternaria solani</i> , 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN ; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	89
28	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Alternaria solani</i> EN PLACAS AL 3,5 %; 3,0 %; 2,5 %; 2,0 %; 1,5 %; 1,0 % Y 0,5 % DE ALCOHOL ETÍLICO, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	90
29	PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Alternaria solani</i> EN PLACAS AL 3,5 %; 3,0 %; 2,5 %; 2,0 %; 1,5 %; 1,0 % Y 0,5 % DE ALCOHOL ETÍLICO, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	90
30	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL ETÍLICO AL 3,5 %; 3,0 %; 2,5 %; 2,0 %; 1,5 %; 1,0 % Y 0,5 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE <i>Alternaria solani</i> , 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	91
31	PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL ETÍLICO AL 3,5 %; 3,0 %; 2,5 %; 2,0 %; 1,5 %; 1,0 % Y 0,5 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE <i>Alternaria solani</i> , 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	92
32	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Alternaria solani</i> EN PLACAS AL 2,0 % DE EXTRACTO VEGETAL, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	94
33	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL ETÍLICO AL 2,0 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE <i>Alternaria solani</i> , 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	94
34	PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Alternaria solani</i> EN PLACAS AL 2,0 % DE EXTRACTO VEGETAL, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	95

35	PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL ETÍLICO AL 2,0 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE <i>Alternaria solani</i> , 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	96
36	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Alternaria solani</i> EN PLACAS AL 2,0 %; 3,0 %; 4,0 % Y 5,0 % DE EXTRACTO VEGETAL, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	99
37	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN POR EFECTO DE EXTRACTOS VEGETALES AL 2,0 %; 3,0 %; 4,0 % Y 5,0 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE <i>Alternaria solani</i> , 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	99
38	PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Alternaria solani</i> EN PLACAS POR EFECTO DEL EXTRACTO VEGETAL; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	100
39	PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL DESARROLLO MICELIAL DE <i>Alternaria solani</i> POR EFECTO DEL EXTRACTO VEGETAL; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	101
40	PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Alternaria solani</i> EN PLACAS POR EFECTO DE LA DOSIS; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	101
41	PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL DESARROLLO MICELIAL DE <i>Alternaria solani</i> POR EFECTO DE LA DOSIS APLICADA; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	102
42	PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Alternaria solani</i> EN PLACAS POR EFECTO DE LA INTERACCIÓN ENTRE EL EXTRACTO Y LA DOSIS; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	103
43	PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL DESARROLLO MICELIAL DE <i>Alternaria solani</i> POR EFECTO DE LA INTERACCIÓN ENTRE EL EXTRACTO VEGETAL Y LA DOSIS; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015	104

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

		Página
1	PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL ETÍLICO EN EL DESARROLLO MICELIAL DE <i>Fusarium oxysporum</i>	73
2	EFECTO DE EXTRACTOS VEGETALES AL 2,5% EN EL DESARROLLO MICELIAL DE <i>Fusarium oxysporum</i>	77
3	ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Fusarium oxysporum</i> EN PLACAS AL 2,0 %; 3,0 %; 4,0 %; 5,0 %; 6,0 %; 7,0 % Y 8,0 % DE EXTRACTO VEGETAL	84
4	PORCENTAJE DE INHIBICIÓN POR EFECTO DE EXTRACTOS VEGETALES AL 2,0 %; 3,0 %; 4,0 %; 5,0 %; 6,0 %; 7,0 % Y 8,0 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE <i>Fusarium oxysporum</i>	85
5	PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL ETÍLICO EN EL DESARROLLO MICELIAL DE <i>Alternaria solani</i>	93
6	EFECTO DE EXTRACTOS VEGETALES AL 2,0% EN EL DESARROLLO MICELIAL DE <i>Alternaria solani</i>	98
7	ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE <i>Alternaria solani</i> EN PLACAS AL 2,0 %; 3,0 %; 4,0 % Y 5,0 % DE EXTRACTO VEGETAL	105
8	PORCENTAJE DE INHIBICIÓN POR EFECTO DE EXTRACTOS VEGETALES AL 2,0 %; 3,0 %; 4,0 % Y 5,0 % EL CRECIMIENTO MICELIAL DE <i>A. solani</i>	106





## RESUMEN

En la presente investigación se realizó una evaluación de la actividad inhibitoria de 12 extractos vegetales sobre el crecimiento micelial *in vitro* de *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani* en las instalaciones del laboratorio de Fitopatología del Centro Universitario del Norte, durante los meses de julio del 2014 hasta julio del 2015.

Para la preparación de extractos se recolectaron muestras de material vegetal de *Annona reticulata*, *Annona diversifolia*, *Annona squamosa*, *Azadirachta indica*, *Chenopodium ambrosioides*, *Equisetum giganteum*, *Gliricidia sepium*, *Lippia alba*, *Plantago major*, *Ricinus comunis* y *Sida rhombifolia* en diferentes localidades de los departamentos de Alta Verapaz, Baja Verapaz, El Progreso y Quiché. El método de extracción que se utilizó es la tintura vegetal y utilizando como solvente alcohol etílico al 95 % en una relación 1:10 (10% P/V).

Dado que los extractos son una mezcla de compuestos químicos vegetales disueltos en el alcohol, fué necesario determinar a través de un ensayo experimental el grado de tolerancia de *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani* a dicho solvente. Para esto se evaluó el desarrollo micelial de la colonia en diferentes concentraciones de alcohol; al final se definió que para *F. oxysporum* la dosis máxima tolerable a la cual el crecimiento micelial es similar al testigo es al 2,5 % y para *A. solani* al 2,0 % de dicho solvente.

Determinar la concentración a la cual el efecto del alcohol no es significativo, permitió definir la dosis que se aplicaron los 12 extractos en las placas para evaluar su actividad antifúngica y descartar los tratamientos con baja

o nula actividad inhibitoria micelial. Por medio de esto se identificó que los extractos de *Annona diversifolia*, *A. squamosa*, *A. reticula* y *Plantago major* tienen un efecto negativo en el crecimiento de *Fusarium oxysporum*; y en el caso de *Alternaria solani* fueron los extractos de follaje de *Azadirachta indica* y *Gliricidia sepium*.

Los extractos que resultaron efectivos para el control de los hongos fitopatógenos evaluados, se incluyeron en otro ensayo discriminatorio para determinar la dosis inhibitoria a la cual el desarrollo del hongo es nulo; en el caso *Fusarium* es al 8,0 % de extractos de *Annonas* y *Plantago major*, y para *Alternaria* resulta a una dosis del 5,0 % de los extractos de *Gliricidia sepium* y *Azadirachta indica* (follaje).

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades fitopatógenas son factores dentro de los sistemas agrícolas que limitan la producción de cualquier cultivo, desde la siembra hasta la cosecha, y algunas veces se extienden hasta la postcosecha. Los patógenos debilitan a las plantas por la continua absorción de nutrientes de sus células y causan alteración en su metabolismo que afecta su desarrollo y crecimiento normal.

Los hongos fitopatógenos son organismos eucarióticos, microscópicos, ramificados y a menudo filamentosos que carecen de clorofila; atacan a las plantas hospederas a través del movimiento de sus estructuras reproductivas (esporas) que se diseminan por medios mecánicos, viento o agua. Se transfieren fácilmente de suelos contaminados y plantas que contienen el patógeno.

*Alternaria solani* es un hongo fitopatógeno que causa enfermedades como el tizón temprano de la papa y el tomate, ahogamiento de plántulas y pudriciones de frutos y tubérculos; otro hongo fitopatógeno es *Fusarium oxysporum* que produce marchitez vascular en hortalizas y flores, pudrición de semillas, plántulas y productos postcosechados.

Todas estas enfermedades causan severos daños en las zonas de producción agrícola de la región de Alta Verapaz; dado que las condiciones ambientales presentes son las óptimas para el desarrollo de estos hongos y además tienen la capacidad de parasitar a una amplia gama de hospederos.

La variedad y complejidad de la mayoría de enfermedades fúngicas han propiciado el desarrollo de numerosas opciones de control aplicables a los campos de cultivo. Dentro de estas medidas se encuentra el uso de extractos vegetales con actividad antifúngica, basado en la premisa de que las plantas producen de forma natural metabolitos secundarios como mecanismos de defensa contra patógenos.

Sin embargo, el gran número de plantas potenciales dentro de la flora del país hace que la búsqueda de materiales vegetales con compuestos antifúngicos sea una tarea constante y larga. Por lo cual, en la presente investigación se evaluó la acción inhibitoria de 12 extractos vegetales *in vitro* en los hongos fitopatógenos: *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani*.

La investigación se realizó bajo condiciones de laboratorio en el Centro Universitario del Norte (CUNOR), donde los hongos fitopatógenos fueron cultivados en medios artificiales a los que se les aplicó el extracto vegetal.

La acción antifúngica de los extractos se determinó al medir la superficie ocupada por el micelio del hongo en la placa y por el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial.

## DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Actualmente el principal método de control de enfermedades fúngicas en las plantas es el químico, pero este presenta desventajas como: costos elevados, problemas de toxicidad en los humanos y animales, residualidad, contaminación de los ecosistemas, eliminación de organismos benéficos y el desarrollo de resistencia genética.

Como alternativa se plantea el uso de extractos vegetales que causan menor repercusión al medio ambiente y a la salud humana. Pero, éstos se han usado empíricamente y de forma indiscriminada a todo tipo de patógeno. Además, las líneas de investigación realizadas varían en función de la flora local, la disponibilidad y acceso de materia prima para el extracto; y al patógeno que sea de interés evaluar.

Por lo tanto, debido a la amplia gama de plantas que se suponen son antifúngicas y que podrían usarse contra hongos fitopatógenos de importancia económica como: *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani*, se planteó la necesidad de demostrar ¿Cuáles extractos vegetales son efectivos inhibidores sobre el crecimiento *in vitro* de éstos patógenos?

De manera que es importante investigar el efecto de extractos vegetales, a los que se les atribuye actividad antifúngica, sobre el crecimiento micelial de *F. oxysporum* y *A. solani*, bajo condiciones de laboratorio, en Cobán, Alta Verapaz.

## JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades fúngicas en las plantas pueden ser tan severas que repercuten negativamente en la producción y rendimientos obtenidos al final del ciclo del cultivo, lo que produce que el hombre se esfuerce por encontrar medidas de control que reduzcan las pérdidas económicas a niveles aceptables.

Dentro de los métodos de control el más utilizado es el químico, el cual puede causar efectos dañinos en la salud del hombre y el medio ambiente. Además, el éxito que presentan algunos fungicidas sintéticos es a corto plazo, debido a la constante evolución de los patógenos y los cambios ambientales que han sufrido los ecosistemas.

Esto ha hecho que se centre la atención en la aplicación de principios ecológicos para el control de enfermedades, lo que da inicio a una nueva búsqueda de sustancias antifúngicas dentro de productos naturales que puedan

Dentro de los estudios desarrollados con este objetivo, se ha identificado que las plantas producen de forma natural metabolitos secundarios como mecanismos de defensa bioquímicos contra patógenos como los hongos. Lo cual tiene una aplicación práctica a través del uso de extractos vegetales para el manejo de enfermedades de origen fúngico en los cultivos; que es una estrategia efectiva, de bajo costo y acción selectiva, que causan la menor repercusión posible al medio ambiente y a la salud del hombre.

Debido al potencial antifúngico que se le ha atribuido a plantas ubicadas en la región de Alta Verapaz como: *Annona reticulata*, *Annona diversifolia*, *Annona squamosa*, *Azadirachta indica*, *Chenopodium ambrosioides*, *Equisetum giganteum*, *Gliricidia sepium*, *Lippia alba*, *Plantago major*, *Ricinus comunis* y *Sida rhombifolia*; se consideró valioso probar la actividad inhibitoria de sus extractos

sobre cultivos *in vitro* de hongos fitopatógenos de importancia económica como: *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani*; para identificar posibles alternativas de control natural aplicables a campos de cultivo afectados por estos patógenos.

Los hongos fitopatógenos evaluados tienen varios hospederos y las condiciones ambientales presentes en Alta Verapaz son las propicias para su crecimiento y desarrollo; lo que aumenta la frecuencia y severidad de las enfermedades que estos patógenos producen en los cultivos.

## OBJETIVOS

### A. General

Evaluar la acción antifúngica de 12 extractos vegetales sobre cultivos *in vitro* de los hongos fitopatógenos: *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani*.

### B. Específicos

1. Establecer un procedimiento de extracción del principio activo de los materiales vegetales seleccionados para evaluar su acción antifúngica.
2. Definir el efecto del alcohol etílico a diferentes concentraciones en el crecimiento micelial de *F. oxysporum* y *A. solani* en las placas de cultivo.
3. Determinar la actividad antifúngica de los extractos vegetales por medio del cálculo del área de la colonia delineada en la placa y el porcentaje de inhibición del crecimiento *in vitro* de *F. oxysporum* y *A. solani*.
4. Identificar la dosis mínima inhibitoria de los extractos vegetales promisorios que impida el crecimiento micelial *in vitro* de *F. oxysporum* y *A. solani*.



## HIPÓTESIS

Los extractos de semillas de *Annona diversifolia*, *Annona reticulata* y *Annona squamosa* inhibirán efectivamente el crecimiento de los hongos fitopatógenos: *Alternaria solani* y *Fusarium oxysporum* en medios de cultivo *in vitro*. Debido a que estas plantas contienen altas concentraciones de acetogeninas en sus semillas<sup>1</sup>; un alcaloide altamente citotóxico. Este metabolito secundario desactiva la habilidad de las células de generar ATP (Trifosfato de adenosina) lo que produce apoptosis y necrosis del tejido.

---

<sup>1</sup> *Extractos vegetales antifúngicos.*  
[http://www.ride.org.mx/docs/publicaciones/09/biotecnologia/Rosalba\\_Ortega\\_Jimenez-Veronica\\_G\\_Dominguez\\_Martinez-Norma\\_A\\_Coria\\_Gil.pdf](http://www.ride.org.mx/docs/publicaciones/09/biotecnologia/Rosalba_Ortega_Jimenez-Veronica_G_Dominguez_Martinez-Norma_A_Coria_Gil.pdf). (25/6/2014)



# CAPÍTULO 1

## MARCO TEÓRICO

### 1.1. Antecedentes

Desde un inicio en la agricultura se utilizaron extractos vegetales para el control de enfermedades y plagas agrícolas, hasta el descubrimiento de los compuestos orgánicos sintéticos en el siglo XX, que fueron desplazados como resultado del éxito y auge que adquirieron estos productos fitosanitarios. El uso de extractos vegetales para el control de enfermedades fúngicas se realiza bajo el fundamento que las plantas de forma natural producen ciertos metabolitos como mecanismos de defensa contra microorganismos fitoparásitos, los cuales pueden ser constitutivos o inducidos en respuesta a un estímulo externo. Estos mecanismos de defensa en las plantas son el resultado de un largo proceso evolutivo que resulta de la presión de selección ejercida por el ambiente. De acuerdo a Grayer y Harborne citado por Belmont:

“Los antifúngicos constitutivos pertenecen a todas las principales clases de compuestos secundarios: terpenoides, iridoides, sesquiterpenos, saponinas, compuestos azufrados o nitrogenados (alcaloides, aminas, amidas), alifáticos (especialmente alcanos de cadena larga y ácidos grasos) y aromáticos (fenoles, flavonoides, estilbenos, bibenziles, xantonas y benzoquinonas). Dentro de las fitoalexinas se encuentran lactosas sesquiterpénicas, pterocarpanos, cumarinas, indoles, bibenzyles, derivados del ácido antranílico, estilbenos, flavanonas, diterpenos, antocianidinas, chromonas, isoflavonas, isoflavonoides, alcaloides, fenoles, antroquinonas, fenilpropanoides y sesquiterpenos”.<sup>2</sup>

---

<sup>2</sup> Roberto Montes Belmont. *Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos*.  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-31802009000100010](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802009000100010).  
(20/8/2014).

**CUADRO 1**  
**PLANTAS CON ACCIÓN ANTIFÚNGICA IDENTIFICADA**

<b>Planta</b>	<b>Actividad Biológica</b>	<b>Patógenos de prueba</b>
<i>Annona sp.</i>	Antimicrobiano antiparasitario, insecticida, antifúngico	<i>Fusarium sp.</i> , <i>Sclerotium sp.</i> <sup>3</sup>
<i>Azadirachta indica</i>	Insecticida, acaricida, bactericida y antifúngico	<i>Alternaria</i> , <i>Aphanomyces</i> , <i>Ascochyta</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Botrytis</i> , <i>Verticillium</i> , <i>Cercospora</i> , <i>Colletotrichum</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Dreschlera</i> , <i>Diplocarpon</i> , <i>Erysiphe</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Helminthosporium</i> , <i>Macrophomina</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Phytophthora</i> , <i>Plasmopara</i> , <i>Puccinia</i> , <i>Pythium</i> , <i>Rhizoctonia</i> , <i>Sclerotinia</i> , <i>Sclerotium</i> , <i>Septoria</i> , <i>Sphaerotheca</i> , <i>Uromyces</i> ,
<i>Ricinus comunis</i>	Insecticida, antifúngico	<i>Colletotrichum</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Rhizoctonia</i> , <i>Pythium</i> , <i>Sphaerotheca</i> . <sup>4</sup>
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	Antifúngico, nematocida, antimicrobiano, antiparasitario	<i>Fusarium oxysporum</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. moliniforme</i> , <i>Colletotrichum</i> , <i>Rhizotocnia solani</i> , <i>Sclerotinia Sclerotiorum</i> , <i>Alternaria sp.</i> , <i>Helminthosporium orizae</i> , <i>Pythium</i> .
<i>Equisetum giganteum</i>	Antifúngico, antibacteriano	<i>Gloesporium</i> , <i>Rhizotocnia solani</i> , <i>Sclerotinia Sclerotiorum</i> , <i>Sclerotium rolfsii</i> , <i>Phytophthora infestans</i> , <i>F. oxysporum</i> . <sup>5</sup>
<i>Gliricidia sepium</i>	Antifúngico, antibacteriano	<i>Colletotrichum gloesporioides</i> <sup>6</sup>
<i>Lippia alba</i>	Antifúngico, antimicrobiano	<i>Moniliophthora roreri</i> <sup>7</sup>
<i>Plantago major</i>	Antibacteriano, antifúngico	<i>Mycosphaerella fijensis</i> <sup>8</sup>
<i>Sida rhombifolia</i>	Antibacteriano y antifúngico	<i>Mycosphaerella fijensis</i> <sup>9</sup>

Fuente: Revisión bibliográfica, 2015.

<sup>3</sup> Una alternativa para el biocontrol de Hongos fitopatógenos. <http://ride.org.mx/111/index.php/RIDESECUNDARIO/article/viewFile/121/11>. (15/7/2015).

<sup>4</sup> Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos. <http://revistamexicanademicologia.org>. (15/7/2015).

<sup>5</sup> Control Biológico de Enfermedades de Plantas en América Latina y el Caribe. <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1012615/1/2014LV01.pdf>. (15/7/2015).

<sup>6</sup> *Gliricidia sepium* potencial antifúngico. <http://ride.org.mx/111/index.php/RIDESECUNDARIO/article/viewFile/121/117>. (15/7/2015).

<sup>7</sup> Efecto *in vitro* de aceites esenciales de 3 especies de *Lippia* sobre *Moniliophthora roreri*. <http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S012028122012000200002&script>. (15/7/2015).

<sup>8</sup> Evaluación *in vitro* de extractos vegetales sobre *Mycosphaerella fijensis*. [http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/Agronomia14-1\\_5.pdf](http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/Agronomia14-1_5.pdf). (15/7/2015).

<sup>9</sup> Extractos utilizados como biocontroles con énfasis en la familia Piperaceae. [http://desarrolloudec.unicundi.edu.co/doc/investigacion/varios/ARTICULO\\_2008.pdf](http://desarrolloudec.unicundi.edu.co/doc/investigacion/varios/ARTICULO_2008.pdf). (15/7/2015).

La acción antifúngica que pueda tener un extracto, puede estar relacionada por el efecto producido por la mezcla de varios compuestos o por alguno en específico en una determinada concentración y proporción; y asimismo puede actuar diferencialmente contra varias especies de hongos de forma amplia o selectiva.<sup>10</sup>

Así como las plantas indicadas en la tabla 1 (pág. 9), existe una amplia gama de otras más en la naturaleza, que se les ha atribuido alguna actividad antifúngica o antimicrobiana por medio de diferentes pruebas empíricas o científicas.

A continuación se presenta una recopilación de información sobre los ensayos realizados con extractos de plantas en cultivos *in vitro* de hongos fitopatógenos.

## **1.2. Revisión bibliográfica**

### **1.2.1. Hongos fitopatógenos**

#### **a. Morfología**

“El soma de los hongos se denomina micelio y las bifurcaciones individuales o filamentosas del micelio se denominan hifas”<sup>11</sup>. En algunos hongos inferiores el soma está constituido por una masa multinucleada sin paredes celulares, denominada plasmadio.

---

<sup>10</sup> Roberto Montes Belmont. *Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos*. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-31802009000100010](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802009000100010). (20/8/2014).

<sup>11</sup> G.N. Agrios. *Fitopatología 2da. Edición*. (México: Editorial Limusa, 1998), 273.

La hifa es un filamento tubular lleno de citoplasma, que puede tener septos o ser cenocítico (sin septos). Algunos hongos parásitos producen haustorios para penetrar el tejido de las plantas y extraer los nutrientes que necesita.<sup>12</sup>

## **b. Reproducción**

Las estructuras reproductivas de los hongos son las esporas, que pueden constar de una o varias células y originarse de forma sexual o asexual. Las esporas asexuales pueden desarrollarse dentro de esporangios o zoosporangios en hongos inferiores, picnidios o producirse en células terminales o laterales de hifas especializadas denominadas conodióforos, a estas esporas se les denomina conidios o clamidosporas si están rodeadas por una pared densa.<sup>13</sup>

Por otra parte las esporas sexuales; en los *Oomycetes* pueden formarse de la fusión de dos gametos semejantes, cigoto denominado zigospora; o por dos gametos distintos, cigoto denominado oospora. En la subdivisión *Ascomycotina* se producen ocho esporas sexuales (ascosporas) dentro de una célula o cigoto (asca); la subdivisión *Basidiomycotina* forma esporas sexuales (basidiosporas) fuera de la célula o cigoto (basidio) y en los *Deuteromycotina* no se ha observado en la actualidad alguna espora sexual.<sup>14</sup>

---

<sup>12</sup> German Rivera Coto. *Conceptos introductorios a la fitopatología*. (San Jose, Costa Rica: Editorial EUNED, 2007), 27.

<sup>13</sup> G.N. Agrios. *Fitopatología 2da. Edición*. (México: Editorial Limusa, 1998), 273.

<sup>14</sup> *Ibíd.*, 275

### c. **Ecología y diseminación**

Los hongos fitopatógenos pueden clasificarse como parásitos obligados, cuando solamente se desarrollan en su huésped vivo; otros como saprófitos facultativos, que parasitan a un organismo pero cuando este muere sobreviven como saprófitos nutriéndose del tejido muerto; también están los parásitos facultativos, que se nutren de materia orgánica en el suelo o de restos de tejido muerto de su hospedero, pero en algún momento de su ciclo pueden parasitar a hospederos vivos.<sup>15</sup>

Por la forma de nutrirse los hongos se clasifican como biotróficos si viven solo y exclusivamente en tejidos vivos; y necrotróficos cuando crecen en tejidos muertos y se nutren a través de estos.<sup>16</sup>

Es importante recalcar, que el desarrollo de los hongos fitopatógenos está íntimamente relacionado con ciertos factores abióticos de los ecosistemas como la humedad relativa, humedad superficial en las plantas, temperatura, precipitación, etc.<sup>17</sup>

Algunos componentes de los ecosistemas (factores bióticos y abióticos) pueden operar como agentes diseminadores de las estructuras fungosas. Por ejemplo el viento, animales y el hombre pueden transportar fácilmente esporas de cenicillas, royas y carbonos; esporas con cubierta mucilaginosas se diseminan mejor

---

<sup>15</sup> German Rivera Coto. *Conceptos introductorios a la fitopatología*. (San Jose, Costa Rica: Editorial EUNED, 2007), 33.

<sup>16</sup> *Ibíd.*

<sup>17</sup> *Ibíd.*

con la lluvia, insectos y el hombre. Por otra parte algunas esporas tienen estructuras especializadas que les permiten movilizarse a distancias cortas como sucede con las zoosporas, a través de un medio líquido.<sup>18</sup>

#### **d. Clasificación**

La clasificación taxonómica en el estudio de los hongos es muy variante y divergente, para los fines de trabajo se tomará la clasificación empleada por Agrios, G.N.<sup>19</sup>

#### **e. Ciclo de vida**

En su mayoría los hongos tienen una etapa de esporas haploides, que germina y produce una hifa. La nueva hifa produce esporas haploides o se fusiona con otra hifa y forma una hifa con núcleos diploides (cigoto).

En los *Oomicetos*, el cigoto se divide y produce esporas haploides y concluye el ciclo. En la mayoría de la subdivisión *Ascomycotina* y *Basidiomycotina* el par de núcleos de la hifa fecundada no se fusiona y forma un micelio dicariótico. En los *Ascomycotina*, continúa dividiéndose para producir células hifales dentro de cuerpos fructíferos que dan origen a las hifas ascogénicas, que se fusionan y forman un cigoto, del que se derivan las ascosporas, por medio de divisiones meióticas.<sup>20</sup>

---

<sup>18</sup> German Rivera Coto. *Conceptos introductorios a la fitopatología*. (San Jose, Costa Rica: Editorial EUNED, 2007), 33.

<sup>19</sup> G.N. Agrios. *Fitopatología 2da. Edición*. (México: Editorial Limusa, 1998), 277.

<sup>20</sup> *Ibíd.*, 290.



Las hifas dicarióticas en la subdivisión *Basidiomycotina*, pueden producir esporas asexualmente y generar un nuevo micelio dicariótico; en ambos casos, los núcleos de las células se pueden fusionar y formar cigotos, que a través de divisiones meióticamente producen basidiosporas, que poseen núcleos haploides.<sup>21</sup>

En el caso de la subdivisión *Deuteromycotina*, el ciclo es asexual en secuencia espора haploide - micelio haploide - espора haploide.<sup>22</sup>

### 1.2.2. *Alternaria solani*

#### a. Clasificación

División:	<i>Eumycota</i>
Subdivisión:	<i>Deuteromycotina</i>
Clase:	<i>Hyphomycetes</i>
Orden:	<i>Hyphales</i>
Género:	<i>Alternaria</i>
Especie:	<i>Alternaria solani</i> <sup>23</sup>

#### b. Características morfológicas

*A. solani* presenta un micelio oscuro, tabicado y ramificado. Los conidios son producidos en conidióforos, cortos y oscuros sobre la epidermis del tejido enfermo del hospedero. Los conidios

---

<sup>21</sup> G.N. Agrios. *Fitopatología 2da. Edición*. (México: Editorial Limusa, 1998), 191.

<sup>22</sup> *Ibíd.*

<sup>23</sup> *Ibíd.*, 281

son grandes, alargados, oscuros, multicelulares, con forma de pera y septos tanto transversales como longitudinales.<sup>24</sup>

**c. Hospederos**

Este patógeno parasita a plantas de tomate, papa, berenjena, chile pimiento, chile picante y otras plantas de la familia solanácea.<sup>25</sup>

**d. Enfermedades que produce**

Tizón temprano de la papa y el tomate, ahogamiento de plántulas, pudriciones de frutos y tubérculos.

**e. Síntomas y signos**

En la planta se pueden presentar daños en tallos, hojas y frutos; también puede causar ahorcamiento en plántulas de semillero. En las hojas se observan manchas circulares de color café oscuro a negro, presentan anillos concéntricos de color más oscuro, un halo amarillo y esporas polvorientas por encima de la mancha; al coalescer varias manchas, la hoja adquiere un aspecto atizonado. A medida que el daño es más severo, el hongo ataca tallos y frutos de forma similar al de las hojas.<sup>26</sup>

---

<sup>24</sup> G.N. Agrios. *Fitopatología 2da. Edición*. (México: Editorial Limusa, 1998), 359.

<sup>25</sup> Jairo Castaño Zapata y Luis del Río Mendoza. *Guía para el diagnóstico y control de enfermedades en cultivos de importancia económica, 3º. Edición*. (Honduras: Zamorano Academic Press, 1994), 195.

<sup>26</sup> Bernardo Latorre Guzmán. *Enfermedades de las Plantas Cultivadas, 5º. Edición*. (México: Editorial Alfaomega, 1999), 340.

#### **f. Ciclo de la enfermedad**

*Alternaria* inverna en los restos vegetales de cultivos anteriores, semillas y tubérculos; queda viable durante un año o más. Las condiciones ambientales propicias para la infección son temperaturas de 24-30 °C y períodos alternados de humedad-sequía. El período de incubación del patógeno en la planta toma alrededor de 2 a 4 días.

Los conidios germinan cuando hay una capa de agua sobre la hoja. Los principales factores de diseminación del patógeno son: la lluvia, viento y equipo agrícola utilizado. Posteriormente, la producción de esporas se da sobre los tejidos infectados, casi siempre cuando las manchas en las hojas tienen unos 3 mm de diámetro.<sup>27</sup>

#### **g. Control**

Para el control de este patógeno en campos de cultivo se hace uso de variedades resistentes y semillas sanas; aspersiones químicas con fungicidas tales como el cloratolonil, maneb, captafol, mancozeb y el hidróxido de fentina. Para reducir la tasa de infección se recomienda elevar la fertilización nitrogenada; además para disminuir la cantidad de inóculo se rotan cultivos, se eliminan y queman restos de cultivos anteriores y un control de malezas adecuado.<sup>28</sup>

---

<sup>27</sup>Bernardo Latorre Guzmán. *Enfermedades de las Plantas Cultivadas*, 5<sup>o</sup>. Edición. (México: Editorial Alfaomega, 1999), 340.

<sup>28</sup> G.N. Agrios. *Fitopatología 2da. Edición*. (México: Editorial Limusa, 1998), 278.

### 1.2.3. *Fusarium oxysporum*

#### a. Clasificación:

División:	<i>Eumycota</i>
Subdivisión:	<i>Deuteromycotina</i>
Clase:	Hyphomycetes
Orden:	<i>Hyphales</i>
Género:	<i>Fusarium</i>
Especie:	<i>Fusarium oxysporum</i> <sup>29</sup>

#### b. Características morfológicas

El micelio de *Fusarium* es incoloro en un inicio, adquiere una apariencia variable con la madurez. Produce tres tipos diferentes de esporas asexuales: microconidios (1 ó 2 septos), macroconidios (3 a 5 septos) y clamidosporas. Los microconidios pueden ser rectos o curvados, hiliados, de forma oval a elipsoidal. Los macroconidos también son hiliados pero poseen una forma similar a la luna en cuarto creciente. Los conidios aparecen sobre la superficie de la planta y en grupos similares a los esporosquios.<sup>30</sup>

#### c. Hospederos

Este patógeno tiene una amplia gama de hospederos principalmente hortalizas y ornamentales.

---

<sup>29</sup> G.N. Agrios. *Fitopatología 2da. Edición*. (México: Editorial Limusa, 1998), 281.

<sup>30</sup> Jairo Castaño Zapata y Luis del Río Mendoza. *Guía para el diagnóstico y control de enfermedades en cultivos de importancia económica, 3º. Edición*. (Honduras: Zamorano Academic Press, 1994), 189.

#### d. Enfermedades que produce

Marchitamientos vasculares en hortalizas y flores, pudriciones de semilla, ahogamiento de plántulas y pudriciones postcosecha.<sup>31</sup>

#### e. Síntomas y signos

En las plantas con marchiteces vasculares las hojas inferiores presentan clorosis y decaimiento, achaparramiento, marchitamiento de hojas y tallos jóvenes, defoliación, necrosis marginal y finalmente la muerte de la planta. Las plántulas en semilleros normalmente se marchitan y mueren con los primeros síntomas, mientras que plantas adultas mueren repentinamente en infecciones severas y condiciones ambientales óptimas para el patógeno.

Algunas plantas infectadas con *Fusarium* se marchitan debido a pudriciones en la base del tallo de las plantas y se presentan manchas rojas o de color rosa.

En pudriciones postcosecha, especialmente en raíces, tubérculos, bulbos y plantas de poca altura (cucurbitáceas y tomates) presentan mohos de color amarillo o rosado sobre la superficie afectada. El tejido enfermo muestra manchas café oscuro al inicio, posteriormente se hunden y arrugan, se forma un moho sobre estas lesiones.<sup>32</sup>

---

<sup>31</sup> G.N. Agrios. *Fitopatología 2da. Edición*. (México: Editorial Limusa, 1998), 428, 446 y 460.

<sup>32</sup> *Ibíd.*

**f. Ciclo de la enfermedad**

Este patógeno está presente como micelio o esporas en el suelo, semillas enfermas y productos postcosecha. Bajo las condiciones ambientales propicias, las esporas germinan y penetra la epidermis del órgano infectado y crecen lentamente, a veces alcanzan el tejido vascular.

En el caso que llegue al xilema, se producen taponamientos en los haces vasculares debido a la producción de micelio, esporas, geles, gomas y tilosas. Al verse afectada la disponibilidad de agua en la planta, se cierran sus estomas y se marchita, causa la muerte de la planta en situaciones severas. Cuando el hongo llega a la superficie de los tejidos, produce esporas que son diseminadas por el viento, agua y demás factores, que intervienen en la aparición de nuevas infecciones.<sup>33</sup>

**g. Control**

Entre las medidas recomendadas para el control está el uso de semilla libre de patógenos, desinfección del suelo y semilleros con cloropicrina o bromuro de metilo y utilizar un fungicida sistémico para proteger a las plántulas. Algunas veces se utilizan nematocidas para eliminar nematodos que pudieran causar algún daño mecánico que significara una entrada para el patógeno.<sup>34</sup>

---

<sup>33</sup> G.N. Agrios. *Fitopatología 2da. Edición*. (México: Editorial Limusa, 1998), 428, 446 y 460.

<sup>34</sup> Jairo Castaño Zapata y Luis del Río Mendoza. *Guía para el diagnóstico y control de enfermedades en cultivos de importancia económica, 3ª. Edición*. (Honduras: Zamorano Academic Press, 1994), 189.

## 1.2.4. Material vegetal

### a. *Anona colorada* (*Annona reticulata*)

#### 1) Clasificación taxonómica

Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase:	<i>Magnolidae</i>
Orden:	<i>Magnoliales</i>
Familia:	<i>Annonaceae</i>
Género:	<i>Annona</i>
Nombre científico:	<i>Annona reticulata</i>
Nombre común:	Anona colorada <sup>35</sup>

#### 2) Origen y distribución

Este es un árbol nativo de las tierras bajas tropicales, desde 1 500 msnm o menos, raramente crece por encima de esta altitud. Geográficamente se distribuye desde el sur de México hasta Perú y Brasil.<sup>36</sup>

#### 3) Descripción botánica

Árbol pequeño de 8 m de altura o a veces de 12 m, con un tronco de 30 cm de diámetro o menos, las ramas jóvenes tienen un aspecto grisáceo-cerosas; las hojas tienen pecíolos cuya

---

<sup>35</sup> Samuel Jones. Traducción, María de Lourdes Huesca Tapia. *Sistemática Vegetal*, 2da. Edición. (México:McGRAW-HILL, 1988), 501-506.

<sup>36</sup> J.F. Morton. *Atlas of medicinal plants off middle América, Bahamas to Yucatán*. (Illinois, USA: Charles Thomas Publisher, 1981), 226.

longitud va de 8 mm - 12 mm, estas son membranosas, de forma lanceolada a oblonga-lanceolada, la lámina tiene 10 cm - 20 cm de longitud y 2 cm - 5 cm de ancho, ápice acuminado, base aguda o redondeada; las inflorescencias surgen desde en medio de los entrenudos, raramente opuestas a las hojas, densas y en pedicelos grisáceo-cerosos, de 1,5 cm - 2,5 cm de longitud; los sépalos de forma redondeada-triangular, acuminados, 2 cm - 3 cm de longitud; pétalos de forma linear-oblonga, de 1,5 mm – 2,5 mm de longitud, de color amarillo verduzco, dilatados en la base puberulenta; fruto globoso - ovoide, de 8 cm - 12 cm de diámetro o más largo, usualmente de color verde rojizo o café rojizo, la piel es reticulada y delgada; las semillas son café oscuras de aspecto brillante, de 12,5 mm de longitud.<sup>37</sup>

#### 4) Composición química

De acuerdo con los estudios fitoquímicos realizados: las hojas, corteza, fruto inmaduro y semilla contienen gran cantidad de taninos. Además se ha detectado la presencia del alcaloide anonaína en la corteza,<sup>38</sup> en las semillas squamocin<sup>39</sup> y en el fruto annonacina<sup>40</sup>; las dos últimas pertenecen al grupo de las acetogeninas. Las acetogeninas son metabolitos secundarios

---

<sup>37</sup> Paul C. Standley & Julian A. Steyermark. *Flora of Guatemala, Part IV*. (Chicago, USA: Chicago Natural History Museum, 1946), 278.

<sup>38</sup> J.F. Morton. *Atlas of medicinal plants off middle América, Bahamas to Yucatán*. (Illinois, USA: Charles Thomas Publisher, 1981), 226.

<sup>39</sup> David Amiel Peña y José Amirel Pérez. *Metodologías utilizadas en la investigación de plantas antitumorales*. [http://cientifica.edu.pe/\\_data/archivos/Investigaciones/Metodologias\\_utilizadas\\_en\\_la\\_investigacion\\_de\\_Plantas\\_Antitumorales\\_Descripcion\\_y\\_Comentarios.pdf](http://cientifica.edu.pe/_data/archivos/Investigaciones/Metodologias_utilizadas_en_la_investigacion_de_Plantas_Antitumorales_Descripcion_y_Comentarios.pdf). (3/8/2014).

<sup>40</sup> Annonacina. <http://es.wikipedia.org/wiki/Annonacina>. (3/8/2014).



presentes solamente en la familia *Annonaceae*, las cuales presentan un amplio rango de actividad biológica como la antiparasitaria, insecticida, antimicrobiana, antifúngica y antitumoral.

## **b. Anona rosada (*Annona diversifolia*)**

### **1) Clasificación taxonómica**

Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase:	<i>Magnolidae</i>
Orden:	<i>Magnoliales</i>
Familia:	<i>Annonaceae</i>
Género:	<i>Annona</i>
Nombre científico:	<i>Annona diversifolia</i>
Nombre común:	Anona rosada <sup>41</sup>

### **2) Origen y distribución**

Planta nativa de la parte tropical de América Central donde se desarrolla naturalmente en las partes bajas de las colinas. Se distribuye desde la costa suroeste de México hasta la costa pacífica de Guatemala y El Salvador, a altitudes menores a 610 msnm.<sup>42</sup>

---

<sup>41</sup> Paul C. Standley & Julian A. Steyermark. *Flora of Guatemala, Part IV*. (Chicago, USA: Chicago Natural History Museum, 1946), 274.

<sup>42</sup> *Annona diversifolia*. [https://es.wikipedia.org/wiki/Annona\\_macrophyllata](https://es.wikipedia.org/wiki/Annona_macrophyllata). (19/07/2015).

### 3) Descripción botánica

Árbol pequeño, ramillas de colores verde grisáceo pálido, un poco glabros; hojas en pecíolos de 8 mm - 18 mm de longitud, membranosas, obovada, 8 cm - 14 cm de longitud, 4 cm - 6 cm de ancho, redondeada o subaguda en el ápice, aguda o redondeada en la base, glabras, de color verde grisáceo pálido por debajo, las hojas de debajo de las brotes floreando orbiculares, 2 cm - 4 cm de longitud; flores solitarias, pecíolos delgados, glabros, recurvados o pendulosos, 3 cm - 5 cm de longitud, minuciosamente bracteolado por debajo de la mitad; sépalos redondo-triangular, ferruginoso-piloso por abajo, 2 mm - 3 mm de longitud; pétalos exteriores linear-oblongo, obtuso, minuciosamente pubescentes del lado externo, 2,5 cm de longitud, 6 mm de ancho en la base, los pétalos interiores rudimentarios; fruto ampliamente ovados, tomentulosas, generalmente de 13 cm - 15 cm de longitud y 12 cm -15 cm de ancho, cubierto con protuberancias redondas bajas; semillas oblongo-ovoides de 2 cm de longitud y 1 cm de ancho.<sup>43</sup>

### 4) Composición química

De acuerdo a los análisis fitoquímicos realizados de las hojas y corteza se encontró la presencia se sesquiterpenlactonas, flavonoides, triterpenos y taninos. Mientras que en las semillas se determinó que contienen altas concentraciones de acetogeninas.<sup>44</sup>

---

<sup>43</sup> Paul C. Standley & Julian A. Steyermark. *Flora of Guatemala, Part IV*. (Chicago, USA: Chicago Natural History Museum, 1946), 274.

<sup>44</sup> *Annona difersifolia*, composición química. <http://ri.ues.edu.sv/6046/1/10103228.pdf>. (19/07/2015).

**c. Anona verde (*Annona squamosa*)**

**1) Clasificación taxonómica**

Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase:	<i>Magnolidae</i>
Orden:	<i>Magnoliales</i>
Familia:	<i>Annonaceae</i>
Género:	<i>Annona</i>
Nombre científico:	<i>Annona squamosa</i>
Nombre común:	Anona verde, anona <sup>45</sup>

**2) Origen y distribución**

Nativa de la región tropical de América, pero se desconoce exactamente su origen, es cultivada y muy común en el sur de Florida, Las Bahamas, el oeste de la Indias y desde el sur de México hasta Brasil.<sup>46</sup>

**3) Descripción botánica**

Es un arbusto o un árbol pequeño, entre 3 m - 6 m de altura, las ramas jóvenes tienen un aspecto grisáceo-seroso; las hojas poseen un pecíolo de 6 mm - 12 mm de largo, tienen una forma lanceolada a oblonga-lanceolada, cuya lámina alcanza 10 cm - 20 cm de largo y 2 cm - 5 cm de ancho, poseen un ápice largo

---

<sup>45</sup> Samuel Jones. Traducción, María de Lourdes Huesca Tapia. *Sistemática Vegetal*, 2da. Edición. (México:McGRAW-HILL, 1988), 501-506.

<sup>46</sup> J.F. Morton. *Atlas of medicinal plants off middle América, Bahamas to Yucatán*. (Illinois, USA: Charles Thomas Publisher, 1981), 227.

acuminado, la base es aguda o redondeada; la inflorescencia surge desde el medio de los entrenudos y raramente opuesta a las hojas, densa, los pedicelos son grisáceo - serosos, tienen 1,5 cm - 2,5 cm de largo; sépalos de forma redonda - triangular, ápice acuminado, 2 mm - 3 mm de largo; pétalos de forma linear - oblonga, obtuso del ápice, algo dilatado en la base puberulente por fuera, de color amarillo pálido y rojo - morado en la base; fruto globoso - ovoide, textura lisa, aréola tenue; semillas numerosas, de forma oblonga - oval, duras, de color negro lustroso, de 12,5 mm de largo.<sup>47</sup>

#### 4) Composición química

En las hojas, tallos y semillas se ha encontrado la presencia de alcaloides como la anonaína. Además de derivados de la aporfina, como roemerina, norcoridina, coridina, norisocorydina, isocorydina y glaucina.<sup>48</sup> Además la planta contiene compuestos cianogenéticos, aminoácidos (citrulina, ornitina, arginina), ácido – aminobutírico y resinas.<sup>49</sup> En las semillas se han aislado las acetogeninas como: annonacina, annonastatina, annonin I y VI, asimicina, bullatalicina, bullatanocina y neoannonina.<sup>50</sup>

---

<sup>47</sup> Paul C. Standley & Julian A. Steyermark. *Flora of Guatemala, Part IV*. (Chicago, USA: Chicago Natural History Museum, 1946), 279.

<sup>48</sup> J.F. Morton. *Atlas of medicinal plants off middle América, Bahamas to Yucatán*. (Illinois, USA: Charles Thomas Publisher, 1981), 227.

<sup>49</sup> Isidoro Cabrera Rodríguez. *La planta y sus usos en las islas de Providencia y Santa Catalina*. [http://books.google.com.gt/books?id=yo5hgMVWvIC&dq=roemerina&hl=es&source=gbs\\_navlinks\\_s](http://books.google.com.gt/books?id=yo5hgMVWvIC&dq=roemerina&hl=es&source=gbs_navlinks_s). (3/8/2014).

<sup>50</sup> Acetogeninas en *Annonaceae*. <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/351/1/58322F634ms.pdf>. (4/8/2014).

#### d. **Neem (*Azadirachta indica*)**

##### 1) **Clasificación taxonómica**

Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase:	<i>Rosidae</i>
Orden:	<i>Sapindales</i>
Familia:	<i>Meliaceae</i>
Género:	<i>Azadirachta</i>
Nombre científico:	<i>Azadirachta indica</i>
Nombre común:	Neem. <sup>51</sup>

##### 2) **Origen y distribución**

“Es nativo de los bosques secos ubicados en la India, Pakistán, Malasia e Indonesia”.<sup>52</sup> Introducida y cultivada en los trópicos y subtrópicos, especialmente en las áreas más secas del sur de Asia, islas del Pacífico, Australia, sur y centro América, El Caribe, el Sub-Sahara Africano y el Medio Oriente.<sup>53</sup>

---

<sup>51</sup>Samuel Jones. Traducción, María de Lourdes Huesca Tapia. *Sistemática Vegetal*, 2da. Edición. (México:McGRAW-HILL, 1988), 501-506.

<sup>52</sup> Augusto Otárala Toscano. *Resultados de 10 años de investigación silvicultura del proyecto Madelaña en Nicaragua*. CATIE, 1997.  
[https://www.google.com.gt/search?hl=es&tbo=p&tbn=bks&q=isbn:9977572798&gws\\_rd=ssl](https://www.google.com.gt/search?hl=es&tbo=p&tbn=bks&q=isbn:9977572798&gws_rd=ssl). (6/8/2014).

<sup>53</sup> *Estudio preliminar de las propiedades físicas de la especie Azadirachta indica (neem), procedente del estado Falcón (Venezuela)*.  
<http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/24315/2/articulo3.pdf>. (6/8/2014).

### 3) Descripción botánica

Árbol de crecimiento rápido, robusto, frondoso y siempre verde, posee una altura entre 15 m a 20 m, raramente entre 35 m y 40 m; tronco de corteza dura, agrietada y de color gris claro hasta castaño rojizo; hoja compuesta imparipinada con 20 a 31 foliolos, de color verde oscuro, 3 cm - 8 cm de largo, retoños de color rojo cobrizo; inflorescencias en racimos, flores de color blanco, fragante, bisexual, actinomorfa; fruto en drupa elipsoidal, lisa de 1,4 cm a 2,4 cm de largo, de color verde claro a amarillo.<sup>54</sup>

### 4) Composición química

El neem posee numerosos ingredientes activos terpénicos, los principales son: azadirachtina, nimbólido, ácido nimbidínico, azadirona, nimbina, etc.<sup>55</sup> En su mayoría los triterpenos identificados pertenecen al grupo de los limonoides, donde se ubica la azadirachtina. En las hojas se ha aislado un compuesto flavonoide polifenólico llamado quercitina, un  $\beta$ -sitosterol, el nimboestero, nimbina y otros limonoides, como la nimocinolida e isonimocinolida.<sup>56</sup> En la semilla de neem se presenta: salanina, azadirachtina, 3-Tigloilazadiractol, 3-desacetilsalanina, nimbina, desacetilnimbina, azadirachtina D, salaninolida, azadirachtina I,

---

<sup>54</sup> *Azadirachta indica*. [http://es.wikipedia.org/wiki/Azadirachta\\_indica](http://es.wikipedia.org/wiki/Azadirachta_indica). (4/8/2014).

<sup>55</sup> *Ibíd.*

<sup>56</sup> William E. Galan Cortez y Jose B. Ramirez Molendez. *Tesis profesional de la Universidad de El Salvador: Evaluación de los extractos de hojas de Azadirachta indica (Nim) para el control de Meloidogyne sp. de coffea arabica*. <http://ri.ues.edu.sv/495/1/10136851.pdf>. (6/8/2014)

azadirachtanina, e isosananinolida, en orden de importancia por su abundancia.<sup>57</sup>

**e. Apazote (*Chenopodium ambrosioides*)**

**1) Clasificación taxonómica**

Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase:	<i>Caryophyllidae</i>
Orden:	<i>Caryophyllales</i>
Familia:	<i>Chenopodiaceae</i>
Género:	<i>Chenopodium</i>
Nombre científico:	<i>Chenopodium ambrosioides</i>
Nombre común:	Apazote, epazote <sup>58</sup>

**2) Origen y distribución**

Nativa y común de la región tropical de América. Se encuentra extensamente naturalizada como una maleza en temperaturas moderadas en Estados Unidos de Norte América, el oeste de la India y en regiones templadas alrededor del mundo.<sup>59</sup> En Guatemala está ampliamente distribuida desde el nivel del mar

---

<sup>57</sup> Hotón Sánchez Aguilar. *Tesis profesional de la Universidad Autónoma de Chapingo: Caracterización de sitio para plantaciones con nim (Azadirachta indica) en la ciudad Ixteox, Oaxaca.* [http://www.chapingo.mx/dicifo/tesislic/2011/sanchez\\_aguilar\\_hoton\\_2011.pdf](http://www.chapingo.mx/dicifo/tesislic/2011/sanchez_aguilar_hoton_2011.pdf). (6/8/2014).

<sup>58</sup> Samuel Jones. Traducción, María de Lourdes Huesca Tapia. *Sistemática Vegetal, 2da. Edición.* (México:McGRAW-HILL, 1988), 501-506.

<sup>59</sup> J.F. Morton. *Atlas of medicinal plants off middle América, Bahamas to Yucatán.* (Illinois, USA: Charles Thomas Publisher, 1981), 176.

hasta 2 700 msnm. Se encuentra como maleza cerca de viviendas o en campos de cultivo.<sup>60</sup>

### 3) Descripción botánica

Es una planta anual o perenne, erecta o ascendente, de hasta 1 m de altura, posee un aroma desagradable, tallos simples o ramificados, glandular - viloso o tomentoso alrededor de la inflorescencia; hojas inferiores pecioladas, la lámina presenta una longitud entre 3 cm - 10 cm de longitud, y 1,5 cm -5,5 cm de ancho, de forma oblonga a ovada o lanceolada, con borde sinuado-dentado o sinuado-pinnatífido, con ápice obtuso o atenuado, cuneada en la base, conspicuamente cubierto con glándulas o a veces ausentes, puberulenta, con vellos cortos o glabras; flores conglomeradas en una espiga densa o interrumpida, foliosa o desnuda; cáliz de 1 mm de altura, glabro o con pelos cortos, usualmente cubierto de glándulas, los lóbulos cubren completamente el fruto; semillas 0,6 mm – 0,8 mm de ancho, negras.<sup>61</sup>

### 4) Composición química

La planta contiene saponinas y terpenoides. El principal ingrediente activo es el ascaridol, que es un peróxido terpénico insaturado. También presenta geraniol, cimeno, terpineno que son monoterpenos; ácido butírico, metil salicilato, sulfato, fosfato de magnesio y uresa. Además posee la sapogenina de

---

<sup>60</sup> Paul C. Standley & Julian A. Steyermark. *Flora of Guatemala, Part IV*. (Chicago USA: Chicago Natural History Museum, 1946), 139.

<sup>61</sup> Paul C. Standley & Julian A. Steyermark. *Flora of Guatemala, Part IV*. (Chicago USA: Chicago Natural History Museum, 1946), 139.



chenopodium ( $C_{30}H_{10}O_4$ ), un pentacíclico terpenoide, especialmente en la raíz, y en mayor concentración con la madurez.<sup>62</sup>

**f. Cola de caballo (*Equisetum giganteum*)**

**1) Clasificación taxonómica**

Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Equisetophyta</i>
Clase:	<i>Equisetopsida</i>
Orden:	<i>Equisetales</i>
Familia:	<i>Equisetaceae</i>
Género:	<i>Equisetum</i>
Nombre científico:	<i>Equisetum giganteum</i>
Nombre común:	Cola de caballo <sup>63</sup>

**2) Origen y distribución**

Es una especie nativa de América Central y del Sur, distribuida desde México hasta el centro de Argentina y Chile. Naturalizada en casi todo el mundo, se desarrolla en suelos anegados y en orillas de cuerpos de agua.<sup>64</sup>

---

<sup>62</sup> J.F. Morton. *Atlas of medicinal plants off middle America, Bahamas to Yucatán*. (Illinois, USA: Charles Thomas Publisher, 1981), 176.

<sup>63</sup> *Equisetum giganteum*. [http://es.wikipedia.org/wiki/Equisetum\\_giganteum](http://es.wikipedia.org/wiki/Equisetum_giganteum). (4/8/2014).

<sup>64</sup> *Ibíd.*

### 3) Descripción botánica

Planta hidrófila perenne, con rizoma, áspero al tacto por la riqueza de silicio en su epidermis. Este tipo de equiseto posee una altura 2 m - 5 m; tallos aéreos huecos, gruesos, diámetro entre 1 cm - 2 cm, con 16 a 56 costillas; ramas verticiladas que provienen de los nudos de ramas primarias. Posee hojas escuamiformes, verticiladas y connadas en la base, formando una especie de vaina alrededor del nudo. Los esporangios están agrupados en una espiga cilíndrica oval en el ápice de los tallos, en forma de estróbilos.<sup>65</sup> Se diferencia de otros equisetos, por no tener separados los tallos fértiles de los infértiles (fotosintéticos).<sup>66</sup>

### 4) Composición química

Esta especie de acuerdo a los estudios fitoquímicos realizados contiene ácidos orgánicos (aconítico, cafeico, hidroxibenzoico, silícico, oxálico, málico, gálico, cumárico y vanílico); equisetonina un glucósido saponínico; flavonoides como la galuteolina, dihidroquercetina, equesitrina y naringenina; alcaloides (palustrina y nicotina); resina; taninos y sales minerales (especialmente de sílice).<sup>67</sup>

---

<sup>65</sup> *Equisetum giganteum*, ficha de antecedentes de especie. [http://www.mma.gob.cl/clasificacionespecies/fichas9proceso/FICHAS\\_INICIO\\_9o\\_PROCESO\\_PDF/Equisetum\\_giganteum.pdf](http://www.mma.gob.cl/clasificacionespecies/fichas9proceso/FICHAS_INICIO_9o_PROCESO_PDF/Equisetum_giganteum.pdf). (9/8/2014)

<sup>66</sup> *Equisetum giganteum*. [http://es.wikipedia.org/wiki/Equisetum\\_giganteum](http://es.wikipedia.org/wiki/Equisetum_giganteum). (9/8/2014).

<sup>67</sup> Armando Cáceres. *Vademécum Nacional de Plantas medicinales*. (Guatemala: Editorial Universitaria, 2009), 104.

**g. Madre cacao (*Gliricidia sepium*)**

**1) Clasificación taxonómica**

Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase:	<i>Rosidae</i>
Orden:	<i>Fabales</i>
Familia:	<i>Fabaceae</i>
Nombre científico:	<i>Gliricidia sepium</i>
Nombre común:	Madre cacao <sup>68</sup>

**2) Origen y distribución**

Nativo de la zona tropical de América, desde México hasta el norte de Sudamérica. Se ha introducido en las regiones tropicales del mundo especialmente en las zonas cálidas, se encuentra desde 1 600 msnm.<sup>69</sup>

**3) Descripción botánica**

Árbol raramente de más de 10 m de altura, tronco de hasta 30 cm de diámetro, casi siempre ramificado cerca de la base, la corteza va de café claro a muy oscuro, algo áspera debido a la presencia de protuberancias blancas, ramas terminales puberulentas cuando son jóvenes, con el tiempo glabras; posee estípulas de forma ovada a lanceolada de 2 mm de longitud;

---

<sup>68</sup> Samuel Jones. Traducción, María de Lourdes Huesca Tapia. *Sistemática Vegetal*, 2da. Edición. (México:McGRAW-HILL, 1988), 501-506.

<sup>69</sup> Armando Cáceres. *Vademécum Nacional de Plantas medicinales*. (Guatemala: Editorial Universitaria, 2009), 157.

hojas deciduas, con 7 a 17 foliolos, de forma lance-oblonga a ovada elíptica, 3 cm - 7 cm de largo, 2 cm - 3 cm de ancho, ápice agudo u obtuso - acuminado, agudo en la base, por arriba de la hoja de color verde, por debajo ligeramente maculado de color moradizo pálido; racimos de 5 cm -10 cm de largo, a menudo densos y muy floreados, con brácteas de forma ovada de 1 mm de longitud, pedicelos de 5 mm de longitud; cáliz puberulento o casi glabro, de 4 mm - 5 mm de largo; corola de 1,5 cm - 2 cm de longitud, de color rosado brillante o casi blanco; fruto una legumbre de 10 cm - 15 cm de largo, 1 cm - 1,5 cm de ancho, glabra con valvas gruesas y algo leñosas; semillas lenticulares, de color café oscuro, 1 cm de largo.<sup>70</sup>

#### 4) Composición química

De acuerdo a los estudios realizados las hojas de madre cacao presentan alcaloides no cuaternarios, saponinas, esteroles insaturados, flavonoides, cumarinas y polifenoles. Entre los flavonoides identificados está el metil sepiol, sepiol y la robinetina.<sup>71</sup>

---

<sup>70</sup> Paul C. Standley & Julian A. Steyermark. *Flora of Guatemala, Part V.* (Chicago USA: Chicago Natural History Museum, 1946), 265.

<sup>71</sup> Armando Cáceres. *Vademécum Nacional de Plantas medicinales.* (Guatemala: Editorial Universitaria, 2009), 158.

## h. *Salvia Santa (Lippia alba)*

### 1) Clasificación taxonómica

Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase:	<i>Asteridae</i>
Orden:	<i>Lamiales</i>
Familia:	<i>Verbenaceae</i>
Género:	<i>Lippia</i>
Nombre científico:	<i>Lippia alba</i>
Nombre común:	Salvia Santa <sup>72</sup>

### 2) Origen y distribución

Nativa de América, se distribuye desde México hasta Sur América y El Caribe. Se encuentra desde el nivel del mar hasta los 1 800 msnm; en laderas, matarroles y a orilla de los ríos.<sup>73</sup>

### 3) Descripción botánica

Arbusto de 2 m de alto, a menudo ramificado escasamente, densamente puberulento a estrigoso; hojas opuestas o a veces alternas, pecíolos de 2 mm - 10 mm de largo, hojas de 2 cm - 7 cm de largo, de forma oblonga, lance-oblonga u ovada - oblonga, ápice agudo u obtuso, cuneado o atenuado en la base y decurrente en el pecíolo, puberulentas o estrigosas, márgenes

---

<sup>72</sup> Samuel Jones. Traducción, María de Lourdes Huesca Tapia. *Sistemática Vegetal, 2da. Edición*. (México:McGRAW-HILL, 1988), 501-506.

<sup>73</sup> Armando Cáceres. *Vademécum Nacional de Plantas medicinales*. (Guatemala: Editorial Universitaria, 2009), 221.

finamente serrados; los pedúnculos casi siempre solitarios en las axilas de las hojas, flores en espigas subglobosas; brácteas puberulosas, de forma ovada, abruptamente acuminadas, las inferiores a veces mucronadas, de 3 mm - 5 mm de largo; cáliz viloso, de 1,5 mm a 2 mm de largo; corola de color lila pálido, morado, o blanco con morado, de 5 mm - 6 mm de largo.<sup>74</sup>

#### 4) Composición química

Los estudios fitoquímicos han revelado que *Lippia alba*, contiene alcaloides, derivados diterpénicos, taninos, aceite esencial y resinas. El aceite está compuesto de geraniol, carvona, neral,  $\beta$ -cariofileno, metil-heptenona, citronelal, borneol, óxido de cariofileno, cis- $\alpha$ -bisoboleno, germacreno-D, nerol, linalool, citronelal, limoneno, butirato de geranilo, cubenol, transocimeno, eugenol y copaeno., linalool, citronelal, limoneno, butirato de geranilo, cubenol, transocimeno, eugenol y copaeno.<sup>75</sup>

---

<sup>74</sup> Paul C. Standley & Julian A. Steyermark. *Flora of Guatemala, Part IX*. (Chicago USA: Chicago Natural History Museum, 1946), 208.

<sup>75</sup> Armando Cáceres. *Vademécum Nacional de Plantas medicinales*. (Guatemala: Editorial Universitaria, 2009), 222.

i. **Llantén (*Plantago major*)**

**1) Clasificación taxonómica**

Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase:	<i>Asteridae</i>
Orden:	<i>Plantaginales</i>
Familia:	<i>Plantaginaceae</i>
Género:	<i>Plantago</i>
Nombre científico:	<i>Plantago major</i>
Nombre común:	Llantén, lantén <sup>76</sup>

**2) Origen y distribución**

Planta nativa de Eurasia, que se ha naturalizado como maleza universal. Se encuentra de 600 msnm – 1 200 msnm, en matorrales húmedos y orilla de ríos.<sup>77</sup>

**3) Descripción botánica**

Planta herbácea perenne, con gruesos rizomas; hojas escasas en una roseta basal, con pecíolos largos, lámina de forma ovada a elípticamente - ovada, obtusa del ápice, de 5 cm - 20 cm de largo, 3 cm -12 cm de ancho, borde entero o dentado irregularmente, usualmente abruptamente contraída en la base y decurrente en el pecíolo, glabra o cercanamente así;

---

<sup>76</sup> Samuel Jones. Traducción, María de Lourdes Huesca Tapia. *Sistemática Vegetal*, 2da. Edición. (México:McGRAW-HILL, 1988), 501-506.

<sup>77</sup> Armando Cáceres. *Vademécum Nacional de Plantas medicinales*. (Guatemala: Editorial Universitaria, 2009), 155.

flores en escapos de 10 cm - 50 cm de largo, vilosos o pubescentes en un inicio y glabros con la madurez, inflorescencia en espigas cilíndricas, floreadas densamente, de 5 cm - 25 cm de largo, 6 mm - 8 mm de grosor; brácteas usualmente más cortas que el cáliz en antétesis pero frecuentemente más larga con la madurez; sépalos de forma ovada a obovados o elípticos, 1,2 mm - 2 mm de largo, glabros o minuciosamente pubescente a lo largo de la quilla, márgenes escariosos; lóbulos de la corola de forma casi triangular, de 0,5 mm - 1 mm de largo; fruto en cápsula ampliamente ovoide, contienen de 5 o más semillas de color café.<sup>78</sup>

#### 4) Composición química

Según estudios fitoquímicos, las hojas de *Plantago major* contienen mucílago, pectinas, flavonoides (apigenina, baicaleína, luteolina, scutellareína), cumarinas (plantaglucósidos), taninos, glucósidos entre los que se mencionan la aucubina y el catapol; estos últimos son los principios activos de mayor relevancia.

Esta especie también presenta ácido salicílico, sales minerales de potasio y zinc. Además de rutina, alcaloides (noscapida), resinas, esteroides, bases de amina y compuestos azufrados.<sup>79</sup>

---

<sup>78</sup> Paul C. Standley & Julian A. Steyermark. *Flora of Guatemala, Part X*. (Chicago, USA: Chicago Natural History Museum, 1946), 464.

<sup>79</sup> Bárbara Blanco, Adriana Saborío y Giovanni Garro. *Descripción anatómica, propiedades medicinales y uso potencial de Plantago Major (Ilantén mayor)*. [www.tecdigital.itcr.ac.cr/servicios/ojs/index.php/tec\\_marcha/.../106](http://www.tecdigital.itcr.ac.cr/servicios/ojs/index.php/tec_marcha/.../106). (8/8/2014).



## j. Higuierillo (*Ricinus comunis*)

### 1) Clasificación taxonómica

Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase:	<i>Rosidae</i>
Orden:	<i>Euphorbiales</i>
Familia:	<i>Euphorbiaceae</i>
Género:	<i>Ricinus</i>
Nombre científico:	<i>Ricinus communis</i>
Nombre común:	Higuierillo, ricino <sup>80</sup>

### 2) Origen y distribución

Se cree que es nativa de África tropical; se ha distribuido y naturalizado en casi toda la zona tropical y sub-tropical alrededor del mundo.<sup>81</sup> Es abundante en regiones de clima cálido en elevaciones bajas.

### 3) Descripción botánica

Arbusto de tallo grueso, leñoso y hueco, de hasta 6 m de altura, plantas blanquecinas, a menudo teñidas de color rojo o morado; pecíolos largos unidos a la hoja por debajo; hojas grandes de 10 cm - 60 cm de ancho, profundamente palmada - lobadas, hendidas de 5 a 9 lóbulos, lóbulos de forma ovado -

---

<sup>80</sup> Samuel Jones. Traducción, María de Lourdes Huesca Tapia. *Sistemática Vegetal*, 2da. Edición. (México:McGRAW-HILL, 1988), 501-506.

<sup>81</sup> J.F. Morton. *Atlas of medicinal plants off middle América, Bahamas to Yucatán*. (Illinois, USA: Charles Thomas Publisher, 1981), 176.

oblongo a lanceolado, agudo o acuminado en el ápice, de bordes irregularmente dentados; cáliz estaminados de 6 mm - 12 mm de largo, las pistiladas de 4 mm - 8 mm de longitud; fruto en cápsula de 1,2 cm – 2,5 cm de largo, de forma oval, densamente equinado; semillas de forma elipsoidal, algo comprimidas, de 10 mm -17 mm de largo, de textura lisa, moteada y muy variable en color o completamente negro, conspicuamente carunculado.<sup>82</sup>

#### 4) Composición química

Por los estudios químicos realizados, se ha identificado en las hojas de *Ricinus communis*, la presencia en pequeñas cantidades de una albúmina denominada ricina, la cual es una toxina biológica muy potente. Por otra parte, las semillas contienen aceite esencial, nucleoalbúmina, glicoproteínas, un alcaloide denominado ricinina y la albúmina toxina, ricina.<sup>83</sup>

---

<sup>82</sup> Paul C. Standley & Julian A. Steyermark. *Flora of Guatemala, Part VI*. (Chicago, USA: Chicago Natural History Museum, 1946), 156.

<sup>83</sup> *Fichas populares sobre plantas medicinales, 2da. Edición*. (Guatemala: Publicado por CEMAT y Laboratorio FERMAYA, 1990), 126.

## k. Escobillo (*Sida rhombifolia*)

### 1) Clasificación taxonómica

Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase:	<i>Dilleniidae</i>
Orden:	<i>Malvales</i>
Familia:	<i>Malvaceae</i>
Género:	<i>Sida</i>
Nombre científico:	<i>Sida rhombifolia</i>
Nombre común:	Escobillo <sup>84</sup>

### 2) Origen y distribución

Se desconoce exactamente su lugar de origen, pero se ha distribuido y naturalizado como maleza en las áreas tropicales y subtropicales.<sup>85</sup> Es abundante en clima cálido y en elevaciones de 1 800 msnm.

### 3) Descripción botánica

Arbusto o hierba anual ramificado, de 50 cm - 150 cm de altura; estípulas subuladas, de 4 mm - 10 mm de largo; las hojas presentan pecíolos cortos, lámina de forma lanceolada a oblonga o rómbico - oblonga, usualmente con ápice obtuso, cuneada de la base, 3 nervada, con bordes serrados,

---

<sup>84</sup> Samuel Jones. Traducción, María de Lourdes Huesca Tapia. *Sistemática Vegetal*, 2da. Edición. (México:McGRAW-HILL, 1988), 501-506.

<sup>85</sup> *Sida rhombifolia*. [http://es.wikipedia.org/wiki/Sida\\_rhombifolia](http://es.wikipedia.org/wiki/Sida_rhombifolia). (8/8/2014).

minuciosamente puberulenta en el haz o casi glabro, envés pálido y cubierto con pelos densos; flores casi siempre solitarias en las axilas de las hojas, pedúnculos a menudo casi tan largos como las hojas; cáliz angulado de 6 mm - 7 mm de largo con diminutos pelos estrellados tomentosos; corola amarillo o naranja amarillo; carpelos en el fruto de 10 - 14, con 1 o 2 rostelos en el ápice; semillas café, glabras excepto del hilio.<sup>86</sup>

#### 4) Composición química

Entre los metabolitos secundarios encontrados en *Sida rhombifolia*, se identificaron principalmente alcaloides. “Tanto en las partes aéreas como en la raíz se han detectado, colina, pseudoefedrina, beta-fenetilamina, efedrina, vascina, vascicina, vascinol, y vascicinona”.<sup>87</sup> En el tallo se han encontrado alcaloide del indol, hipaforina, éster metílico de hipaforina y criptolenina; mientras que en las semillas se ha determinado la presencia de sesquiterpenos gossipol y un isómero.<sup>88</sup>

---

<sup>86</sup> Paul C. Standley & Julian A. Steyermark. *Flora of Guatemala, Part VII*. (Chicago, USA: Chicago Natural History Museum, 1946), 379.

<sup>87</sup> *Sida rhombifolia*.  
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7532>. (8/8/2014).

<sup>88</sup> *Ibíd.*

### 1.2.5. Extractos vegetales

La extracción se define como “un proceso que incorpora las sustancias activas de una droga cruda a un determinado disolvente en forma de disolución”.<sup>89</sup> El disolvente que se utiliza puede ser agua, etanol, cloroformo, acetona, benceno, metanol, hexano entre otros; los disolventes orgánicos se utilizan para obtención de aceites esenciales, principios activos puros o para la investigación fitoquímica.

El proceso extractivo de compuestos vegetales implica fenómenos de disolución, difusión, ósmosis, diálisis y adsorción; debido a que las células están rodeadas por membranas semipermeables que regulan el movimiento de los solutos y solventes a través de éstas.

En un inicio a causa de daños mecánicos que se pueden producir durante la pulverización o trituración de los tejidos, se dañan las membranas celulares; lo que permite de forma instantánea la disolución de las sustancias activas en el disolvente utilizado.<sup>90</sup>

Sin embargo, algunas membranas celulares pueden quedar intactas, lo que implica que por difusión y ósmosis el disolvente experimenta un paso directo al interior de las membranas celulares, aumenta el volumen del tejido y la disolución de los principios activos dentro de las células.<sup>91</sup>

---

<sup>89</sup> Armando Cáceres. *Vademécum Nacional de Plantas medicinales*. (Guatemala: Editorial Universitaria, 2009), 30.

<sup>90</sup> *Ibíd.*

<sup>91</sup> *Ibíd.*

Por diálisis, los principios activos pueden viajar de la solución más concentrada a la menos concentrada a través de la membrana celular. Esto sucede bajo dos condicionantes: solo se transportan sustancias disueltas molecularmente y de menor tamaño que los poros que presente la membrana.<sup>92</sup>

Una vez alcanzado el equilibrio dinámico en la disolución ya no puede darse una mayor extracción de principios químicos. Solo pueden darse sobre la superficie del tejido algunos fenómenos de adsorción-desorción.<sup>93</sup>

#### **a. Factores que afectan el proceso extractivo**

- A veces la presencia de protoplasma puede interrumpir el proceso de difusión.
- La difusión y ósmosis del disolvente depende de la naturaleza anatómica del tejido, por ejemplo en tejidos parenquimáticos es más fácil que en colenquimáticos.
- La solubilidad y peso molecular de las sustancias activas.
- Propiedades físicas y químicas del disolvente.
- Mantener un gradiente de concentración, presión o temperatura que actúe como una fuerza impulsora de la difusión.
- El tiempo de extracción.
- El grado de trituración o pulverización del tejido está relacionado proporcionalmente a la cantidad de área en contacto con el disolvente.

---

<sup>92</sup> Armando Cáceres. *Vademécum Nacional de Plantas medicinales*. (Guatemala: Editorial Universitaria, 2009), 31.

<sup>93</sup>Ibíd.

- La temperatura puede acelerar el proceso de extracción, pero también puede degradar o volatizar las sustancias activas.<sup>94</sup>

## **b. Métodos de extracción**

Los métodos de extracción pueden dividirse en procesos donde se da un equilibrio en la concentración de la disolución y el residuo como sucede en la maceración y sus variantes; y donde se agote la droga como percolación, repercolación y extracción a contracorriente.<sup>95</sup>

La maceración consiste en colocar la materia prima fragmentada en el disolvente durante un período de tiempo determinado. Se considera que es simple o estática cuando se agita ocasionalmente el mensturo y se nombra dinámica cuando se agita constantemente. Cuando la maceración se realiza a temperaturas elevadas se denomina digestión. En cualquiera de los casos mencionados la etapa final del proceso es el prensado o centrifugación.

La percolación por otra parte implica colocar la materia prima previamente fragmentada en un percolador. Estos instrumentos de laboratorio son de forma cilíndrica o cónica, donde el disolvente corre de arriba a abajo a través de la materia prima depositada en estos, de tal forma que la droga pura es recolectada en el extremo inferior del percolador, por medio de una llave de salida.

---

<sup>94</sup> Armando Cáceres. *Vademécum Nacional de Plantas medicinales*. (Guatemala: Editorial Universitaria, 2009), 32.

<sup>95</sup> *Ibíd.*

La percolación simple es cuando el disolvente está constantemente renovándose; mientras que en la reperlación se hace recircular.

### **c. Tipos de extractos**

#### **1) Tinturas**

Extracto que se obtiene por la acción de un disolvente a través de métodos de maceración o percolación de la materia prima fragmentada y seca; en una proporción 1:10 ó 1:5. El disolvente utilizado es etanol, éter, cloroformo o acetona.

Por definición las tinturas son soluciones alcohólicas o hidroalcohólicas de materiales vegetales. Cuando se utiliza materia fresca para hacer la tintura recibe el nombre de alcoholaturas.<sup>96</sup>

#### **2) Extractos fluidos o líquidos**

Para elaborar este tipo de extractos la materia prima disuelta en el menstruo, se evapora hasta que el volumen o peso del extracto obtenido es igual al peso de la droga cruda.

---

<sup>96</sup> Armando Cáceres. *Vademécum Nacional de Plantas medicinales*. (Guatemala: Editorial Universitaria, 2009), 33.



### **3) Extractos blandos**

Para este tipo de extracto se somete a evaporación parcial el disolvente utilizado durante la extracción, hasta obtener un producto de consistencia espesa.

### **4) Extractos secos**

Este tipo de extracto implica la evaporación total del disolvente, después del período de extracción.

### **5) Oleatos**

Son extractos que se obtienen por maceración de la materia prima disuelta en aceites vegetales, en una proporción 1:10, durante 8 d a 15 d seguido de una filtración. El aceite que generalmente se usa es el de oliva.

### **6) Extractos glicólicos**

En estos extractos la materia prima se disuelve en glicerina, propilenglicol, dietilenglicol o mezclas de estos con agua; a una proporción de 1:1 a 1:10.

### **7) Extractos acetolitos o vinagres**

Es el resultado de utilizar ácido acético o vinagre como disolvente en una tintura de alguna droga vegetal.<sup>97</sup>

---

<sup>97</sup> Armando Cáceres. *Vademécum Nacional de Plantas medicinales*. (Guatemala: Editorial Universitaria, 2009), 33.



## CAPÍTULO 2 METODOLOGÍA

### 2.1. Ubicación del experimento

El trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Fitopatología del CUNOR de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC); localizado geográficamente entre 18° 21' latitud norte y 90° 22' longitud oeste.

### 2.2. Descripción del laboratorio

El laboratorio donde se montó el experimento posee un área de trabajo de 3,45 m × 3,0 m, las mesas son lisas y de cemento. Cuenta con 2 cámaras de flujo horizontal *Nuare*; una estufa de mesa *Sankey*, con 3 hornillas; una refrigeradora de 7 pie<sup>3</sup>; una incubadora *Quincy Lab.* y un horno de Pasteur.

### 2.3. Recolección del material vegetal para la obtención de extractos

Se seleccionaron 11 plantas con efecto antifúngico de acuerdo a los siguientes criterios: disponibilidad, accesibilidad, usos alternativos y toxicidad. Estas fueron recolectadas en diferentes localidades del departamento de Alta Verapaz, Baja Verapaz, El Progreso y Quiché durante julio de 2014 a marzo de 2015; se tomaron muestras de los órganos vegetales donde se determinó que la concentración de metabolitos secundarios es alta. Lo anterior se especifica en la siguiente tabla:

**CUADRO 2**  
**LISTADO DE PLANTAS SELECCIONADAS**

<b>No.</b>	<b>Especie</b>	<b>Órgano recolectado</b>	<b>Lugar</b>	<b>Altitud</b>	<b>Mes</b>
1	Anona rosada ( <i>Annona diversifolia</i> )	Fruto	Sacapulas, Quiché	1 200 msnm	Agosto
2	Anona colorada ( <i>Annona reticulata</i> )	Fruto	Fray Bartolomé de las Casa, Alta Verapaz	150 msnm	Marzo
3	Anona verde ( <i>Annona squamosa</i> )	Fruto	Cobán y Carchá, Alta Verapaz	1 300 msnm	Julio y Agosto
4	Neem ( <i>Azadirachta indica</i> )	Fruto y follaje	San Agustín Acasaguastlán, El Progreso	300 msnm	Julio
5	Higuerillo ( <i>Ricinus comunis</i> )	Fruto	Cobán, Alta Verapaz	1 300 msnm	Septiembre
6	Apazote ( <i>Chenopodium ambrosioides</i> )	Follaje	Cobán, Alta Verapaz	1 300 msnm	Agosto
7	Cola de caballo ( <i>Equisetum giganteum</i> )	Follaje	Cobán, Alta Verapaz	1 300 msnm	Julio
8	Madre Cacao ( <i>Gliricidia sepium</i> )	Follaje	Las Limas, Salamá Baja Verapaz	900 msnm	Julio y Agosto
9	Salvia Santa ( <i>Lippia alba</i> )	Follaje	Cobán, Alta Verapaz	1 300 msnm	Julio
10	Llanten ( <i>Plantago major</i> )	Follaje	Cobán, Alta Verapaz	1 300 msnm	Julio
11	Escobillo ( <i>Sida rhombifolia</i> )	Follaje	Cobán, Alta Verapaz	1 300 msnm	Agosto

Fuente: Investigación de campo, 2015.

Durante la toma de muestras, solo se seleccionaron frutos o follaje en buenas condiciones, libre de patógenos, insectos y contaminantes ambientales. Para una mejor preservación se colectaron a media mañana en días de sol.

Cada muestra obtenida fue transportada al laboratorio en bolsas plásticas rotuladas con un número correlativo, nombre de la planta, nombre del recolector, lugar y fecha.

## **2.4. Preparación de los extractos vegetales**

Los materiales vegetales colectados se trasladaron al Laboratorio de Fitopatología del Centro Universitario del Norte, donde se procedió a darles el tratamiento respectivo para la obtención de los extractos. Como método de extracción se utilizó la tintura, que conllevó los siguientes pasos:

### **2.4.1. Limpieza**

Las muestra vegetales se lavaron con abundante agua para eliminar residuos de polvo y demás contaminates; especialmente aquellos de porte bajo, cuya parte área se encuentra muy cercana a la superficie del suelo como es el caso de: *Plantago major*, *Sida rhombifolia*, *Chenopodium ambrosioides* y *Equisetum giganteum*.

Por otra parte, en el caso de los frutos carnosos de las *Annonas* y *Azadirachta indica*, fue necesario eliminar el pericarpio para obtener las semillas, que fueron la materia prima para la obtención de los extractos de estas especies.

### **2.4.2. Secado**

Las muestras de follaje, se picaron en fresco y se pusieron a secar bajo sombra en un lapso de 7 días, el cual varió en función de las condiciones climáticas y el tipo de material vegetal.

Los frutos de *Ricinus comunis* al ser cápsulas necesitaron un tratamiento previo para la obtención de semillas. Esto consistió en colocar los frutos maduros bajo condiciones de invernadero durante 2 días, ya que las altas temperaturas permitieron que se abrieran las cápsulas y expulsaran las semillas.

El secado de las semillas de *Annona diversifolia*, *A. reticulata*, *A. squamosa*, *Azadirachta indica* y *Ricinus comunis* duró 10 días, bajo sombra.

### **2.4.3. Elaboración de la tintura**

En la elaboración de la tintura se utilizó como disolvente alcohol etílico al 95 % (grado laboratorio), para extraer y disolver en un medio líquido las sustancias activas de las plantas seleccionadas.

Una vez que se obtuvo el material vegetal seco se pulverizó con un mortero. Después en envases plásticos se preparó la tintura en una relación 1:10 (10 % P/V) de planta seca (g) y alcohol etílico (ml).

Las tinturas preparadas se identificaron con el nombre de la especie y la fecha de preparación; después se almacenaron en obscuridad durante 10 días, agitándolas diariamente.

### **2.4.4. Filtrado**

Las tinturas obtenidas se filtraron con papel filtro en un embudo de vidrio. El filtrado obtenido constituyó la solución madre que se considera como el extracto concentrado (100 %).

#### **2.4.5. Almacenado**

El extracto filtrado se almacenó en frascos plásticos de 120 ml y de 500 ml; los cuales fueron rotulados con un número correlativo, especie, órgano vegetal utilizado, volumen y fecha. Después se cubrieron con papel aluminio y se almacenaron en un lugar fresco y oscuro.

### **2.5. Aislamiento y purificación de cultivos *in vitro* de los hongos fitopatógenos**

Se realizó el aislamiento y purificación de cultivos *in vitro* de los hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporium* y *Alternaria solani*, por medio de los siguientes pasos:

#### **2.5.1. Preparación del medio de aislamiento**

Se preparó como medio de aislamiento PDA (papa-dextrosa-agar); en el cual se desarrolla un gran número de especies de hongos. Para esto se hirvió en un erlenmeyer 62,5 g de papa en trozos sin cáscara, en 200 ml de agua desmineralizada durante 20 min, se filtró el caldo obtenido y se disolvió 3,75 g de dextrosa y 3,75 g de agar rotando ligeramente. Al final se aforó la solución de caldo de papa dextrosa-agar a 250 ml con agua desmineralizada y se agregó 5 gotas de ácido láctico al 50 % para obtener un pH de 5,8.

Posteriormente en 25 tubos de ensayo se vertieron 10 ml de PDA por cada uno, se les colocó un tapón de algodón y forró de papel de aluminio; después se esterilizaron en autoclave a 121 °C a 103,425 kPa durante 15 min. Se sacaron los tubos con el medio de la autoclave

y se colocaron inclinados sobre una regla de madera de 3 cm de alto hasta que el medio solidificara. Se incubaron durante 24 h a 25 °C para comprobar su esterilidad.<sup>98</sup>

### 2.5.2. Aislamiento y siembra

Esta etapa consistió en la transferencia de los patógenos evaluados a partir de tejidos vegetales enfermos a medios de cultivo estéril, por medio de los procedimientos descritos a continuación.

La toma de muestras para el aislamiento de *Fusarium oxysporum* se realizó en cultivo de tomate ubicado en la comunidad de Tontem, del municipio de Cobán. Se recolectaron muestras de frutos de tomates que presentaban una mancha oscura aguanosa sobre la cual se desarrollaba un micelio blanco de apariencia algodonosa, síntomas asociados al ataque de este patógeno en los tejidos vegetales.

El diagnóstico de campo se corroboró a través montajes directos de los signos del patógeno observados con un microscopio óptico. Tal como lo indica la literatura se observó un micelio septado, delgado y hialino; conidios hialinos con 3 a 5 septos semejantes a la forma de la luna en cuarto creciente.

Posteriormente se incubó la muestra durante 3 días en una caja de plástico transparente con frutos de tomates previamente desinfectados con cloro al 0,4 % durante 20 min, para mantener la humedad relativa alta se colocaron trozos de algodón húmedo dentro de la caja.

---

<sup>98</sup> Manual de laboratorio de Microbiología Agrícola. Centro Universitario del Norte (CUNOR), de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC).



El patógeno se aisló directamente de los frutos de tomate enfermos de la cámara húmeda. Para transferirlo a un medio de cultivo se utilizó un asa microbiana de punta fina flameada, con la cual se tomó una porción de micelio y se colocó dentro de un tubo de ensayo con PDA acidificado. Los tubos de ensayo sembrados con el micelio se incubaron a una temperatura de  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 5 días.

En otro muestreo que se realizó en la comunidad de Pansinic del municipio de Tactic; se colectó material vegetal enfermo proveniente de plantas de tomate, con síntomas relacionados al ataque de *Alternaria solani* en este cultivo. Los daños que se observaron en el área foliar fueron manchas concéntricas de color café oscuro con un halo amarillo alrededor, que en estados avanzados coalicionan formando un tizón.

Se comprobó este diagnóstico en el laboratorio a través de un montaje directo del patógeno, donde se observaron las características morfológicas de *Alternaria solani* como el micelio septado, oscuro y ramificado; conidios oscuros con septos trasversales y longitudinales con forma de pera.

Para aislar este patógeno de las muestras fué necesario inducir el desarrollo micelial de *A. solani* a través de explantes de tejido infectado de 5 mm x 5 mm, que fueron sembrados en tubos de ensayo con PDA acidificado.

La siembra se realizó en una cámara de flujo horizontal, en ésta los explantes se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0,5 % y alcohol al 70 % durante 1,5 min en cada solución, posteriormente se lavaron en una caja de petri con agua estéril. Por último con un asa microbiológica de anillo flameada se colocaron 2 explantes por tubo de

ensayo sobre el medio de cultivo. Los tubos de ensayo sembrados se incubaron a una temperatura de  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 5 días.<sup>99</sup>

### 2.5.3. Obtención de los cultivos puros

Para la obtención de los cultivos puros de los hongos fitopatógenos evaluados fue necesario eliminar los contaminantes como hongos y/o bacterias de los aislamientos que se obtuvieron en la etapa anterior.

En el caso de *Fusarium oxysporum*, de los tubos donde se logró aislar al patógeno también presentó crecimiento bacteriano. Para eliminar este contaminante; primero se intentó transferir con una aguja flameada, micelio a tubos de ensayo con PDA acidificado a un pH de 4,5. Debido a la agresividad de las bacterias, continuó desarrollándose en estos tubos, por lo cual fue necesaria la utilización de antibiótico en el medio de cultivo. Para esto se preparó PDA con hiclato de doxiciclina a 100 ppm, que resultó efectivo después de una serie de transferencias de micelio del hongo a los tubos de ensayo con este medio.

Por otra parte, en los tubos donde se desarrolló *Alternaria solani* de los explantes sembrados, se presentó contaminación de bacterias y de hongos como *Rhizopus*, *Fusarium*, *Botrytis* y algunos saprófitos. Para eliminarlos se utilizó medio de cultivo más específico para el patógeno con jugo V8 o V3, más antibiótico.

---

<sup>99</sup> Manual de laboratorio de Fitopatología I. Centro Universitario del Norte (CUNOR), de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC).

El medio V8 se preparó con 24 ml de jugo de verdura V8 *Cambell's*; 0,36 g de CaCO<sub>3</sub> y 1,8 g de agar; se aforó a 120 ml con agua desmineralizada y se adicionó a la preparación hclato de doxiciclina a 100 ppm. Una vez disueltos los ingredientes se colocaron 10 ml de este medio en tubos de ensayo y se esterilizaron en autoclave a 121 °C a 103,425 kPa durante 15 min, después se inclinaron los tubos cuando aún el medio estaba caliente. Este mismo procedimiento se realizó para el medio V3, solo se sustituyó el jugo de verduras V8 por jugo de verduras V3 Ducal (tomate, cebolla y apio).

Al final se logró la purificación de *A. solani* con el medio descrito, siempre con la técnica de separación y transferencia de secciones del micelio del hongo a tubos de ensayo con medio estéril.

Los tubos de ensayo con las cepas de *F. oxysporum* y *A. solani* identificados, aislados y purificados se almacenaron en un espacio cerrado a temperatura ambiente, para el mantenimiento de las colecciones. Se transfirió cada cepa a medio de cultivo nuevo cada 2 meses.

## **2.6. Evaluación de la tolerancia de los hongos fitopatógenos al alcohol etílico**

Dado que los extractos vegetales fueron preparados con alcohol etílico se montó un ensayo experimental *in vitro* con placas de PDA + alcohol etílico en una relación de 1:4, 1:8, 1:16 y 1:32, para determinar el grado de tolerancia que poseen *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani* a dicho solvente. Para cada hongo fitopatógeno se realizó el siguiente procedimiento:

Se preparó medio de cultivo y se colocó 18,8 ml; 21,9 ml; 23,4 ml; 24,2 ml y 25,0 ml en tubos de ensayo para esterilizarlos, en el caso de

*F. oxysporum* se utilizó PDA y V3 para *A. solani*. Luego se vertió el medio en cajas de petrí que contenían alcohol etílico al 95 % en las siguientes proporciones, con 3 repeticiones por tratamiento:

- 18,8 ml de medio de cultivo + 6,2 ml de alcohol = relación 1:4 (25 %)
- 21,9 ml de medio de cultivo + 3,1 ml de alcohol = relación 1:8 (12,5 %)
- 23,4 ml de medio de cultivo + 1,6 ml de alcohol = relación 1:16 (6,25 %)
- 24,2 ml de medio de cultivo + 0,8 ml de alcohol = relación 1:32 (3,12 %)
- 25,0 ml de medio de cultivo (testigo)

Después de solidificarse el medio de cultivo, se procedió a abrir 4 agujeros equidistantes por placa con una campana de Durham de 5 mm de diámetro. Cada agujero se inoculó con 0,15 ml de una suspensión de esporas del hongo fitopatógeno evaluado. Las cajas de petrí se incubaron a  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  y se realizaron lecturas del área desarrollado por cada colonia al cabo de 7 días.

Al final se descartaron los tratamientos que causaron mayor inhibición en el crecimiento micelial del hongo fitopatógeno evaluado; y se montó otro ensayo experimental con los procedimientos anteriores con rangos entre el valor de la proporción más pequeña que haya causado inhibición en el crecimiento micelial y el testigo con crecimiento micelial normal (sin inhibición). Para esto se prepararon placas de medio de cultivo + alcohol etílico al 95 % en las siguientes concentraciones: 3,5 %; 3,0 %; 2,5 %; 2,0 %; 1,5 %; 1,0 %; 0,5 % y 0 % (testigo), con 3 repeticiones por tratamiento.

Con base a los datos obtenidos en esta segunda evaluación se determinó que para *F. oxysporum* la concentración a la cual se debe aplicar el extracto es al 2,0 % y para *A. solani* es al 2,5 %, esto en función al grado de tolerancia al alcohol etílico que presentaron los hongos fitopatógenos sin que afecte su crecimiento y desarrollo.

## **2.7. Montaje del experimento**

### **2.7.1. Preparación del medio de cultivo**

Se utilizó la metodología de cultivo envenenado para determinar el efecto inhibitorio de los extractos vegetales sobre el crecimiento micelial de los hongos fitopatógenos evaluados; para esto se realizaron los siguientes pasos:

Se esterilizaron en autoclave tubos de ensayo con 25 ml de PDA en el caso de *F. oxysporum* y V3 para *A. solani*, después se vertió en cajas de petrí que contenían el extracto vegetal a la concentración que se determinó en la segunda prueba de tolerancia de alcohol, que fue para *F. oxysporum* al 2,0 % y *A. solani* 2,5 %.

Una vez solidificados los medios se incubaron durante 24 h a temperatura ambiente para comprobar la esterilidad del medio de cultivo.

### **2.7.2. Preparación del inóculo**

Para obtener una suspensión de esporas de los hongos fitopatógenos evaluados fue necesario transferir una porción del micelio de los cultivos puros a un medio de cultivo donde se promoviera la esporulación de este al cabo de un tiempo determinado.

En el caso de *F. oxysporum* se determinó que el PDA es un medio efectivo para la esporulación de este hongo, en un lapso de 7 días después de la siembra se obtuvieron altas concentraciones de conidios en el medio de cultivo. Por otra parte, con *A. solani* se utilizó V3 como medio de esporulación, se produjeron conidios al cabo de 14 días

después de la siembra. El procedimiento para la obtención del inóculo fue el siguiente:

En tubos de ensayo se colocó 10 ml de medio de cultivo preparado por cada uno. Se esterilizaron en autoclave y después se colocaron inclinados para que solidificara el medio. Por 48 h se incubaron los tubos de ensayo con el medio de cultivo a temperatura ambiente para descartar algún tipo de contaminación.

Posteriormente, con un asa microbiológica se sembró una porción de micelio del hongo proveniente de los cultivos puros en los tubos de ensayo con medio; después se incubaron a  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta que se obtuvo un crecimiento homogéneo en los tubos y esporulación.

Se agregó 5 ml de agua desmineralizada estéril en los tubos de ensayo cultivados y con el asa flameada se realizó un raspado a la colonia, para obtener la suspensión de esporas. El material obtenido se trasvasó a un tubo de ensayo con rosca estéril, donde se agitó durante 3 min. Después se realizó el conteo de esporas con una cámara de Neubauer para conocer la concentración inicial y se diluyó hasta obtener una suspensión de 70,000 microconidios/ $\mu\text{L}$  en *F. oxysporum* y 150 conidios/ $\mu\text{L}$  en *A. solani* con agua desmineraliza estéril.

### **2.7.3. Inoculación del hongo**

En las cajas de petrí con medio de cultivo + extracto vegetal preparadas, se perforaron 4 agujeros equidistantes con una campana de durham de 5 mm de diámetro; esta metodología se denomina siembra en pozos.

Después se depositó en cada agujero 0,15 ml de la suspensión de esporas preparada. Los medios inoculados se incubaron durante 7 días a una temperatura de 25 °C; al concluir dicho lapso de tiempo se realizaron las lecturas de las variables respuestas.

#### **2.7.4. Interpretación de resultados**

Se determinó la acción antifúngica de los extractos evaluados a través del crecimiento superficial que presentaron las colonias por cada tratamiento, para esto se calcó el área que ocupaba cada colonia en los medios de cultivo al cabo de 7 días después de la inoculación. Posteriormente con papel milimetrado se calculó el área de estas en mm<sup>2</sup>.

Se tomaron como resultados positivos aquellos extractos que redujeron el diámetro de la colonia significativamente, con respecto al testigo absoluto. Por otro lado, si el crecimiento del hongo en las placas con extracto es similar a las del testigo, la actividad antifúngica del extracto se consideró nula o baja.

### **2.8. Diseño experimental**

#### **2.8.1. Tratamientos y tamaño del experimento**

Se evaluaron 12 tratamientos diferentes con medio de cultivo (PDA o V3) + extracto vegetal y un testigo absoluto (PDA o V3 sin extracto); haciendo un total de 13. Se realizaron tres repeticiones, tomando como unidad experimental una caja de petrí con medio de cultivo. Por lo tanto, se tuvo 39 unidades experimentales por cada uno de los dos hongos fitopatógenos evaluados: *Alternaria solani* y *Fusarium oxysporum*.

### CUADRO 3 TRATAMIENTOS

T1	PDA o V3 sin extracto
T2	PDA o V3 + extracto de <i>Annona diversifolia</i> (semilla)
T3	PDA o V3 + extracto de <i>Annona reticulata</i> (semilla)
T4	PDA o V3 + extracto de <i>Annona squamosa</i> (semilla)
T5	PDA o V3 + extracto de <i>Azadirachta indica</i> (follaje)
T6	PDA o V3 + extracto de <i>Azadirachta indica</i> (semilla)
T7	PDA o V3 + extracto de <i>Chenopodium ambrosoides</i> (follaje)
T8	PDA o V3 + extracto de <i>Equisetum giganteum</i> (follaje)
T9	PDA o V3 + extracto de <i>Gliricidia sepium</i> (follaje)
T10	PDA o V3 + extracto de <i>Lippia alba</i> (follaje)
T11	PDA o V3 + extracto de <i>Plantago major</i> (follaje)
T12	PDA o V3 + extracto de <i>Sida rhombifolia</i> (follaje)
T13	PDA o V3 + extracto de <i>Ricinus comunis</i> (semilla)
*PDA se utilizó para <i>Fusarium oxysporum</i> y V3 para <i>Alternaria Solani</i>	

Fuente: Investigación de laboratorio, 2015.

#### 2.8.2. Modelo estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar para identificar los extractos vegetales que inhibieron el crecimiento micelial de *F. oxysporum* y *A. solani* significativamente.

El análisis para una distribución completamente al azar asume el siguiente modelo lineal aditivo:<sup>100</sup>

$$x_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

---

<sup>100</sup> Pedro Reyes Castañeda. *Diseño de experimentos aplicados*. (México: Editorial Trillas, 1984) 98.



Donde:  $X_{ij}$  = Variable respuesta para  $T_i$  en la réplica  $j$   
 $\mu$  = media general  
 $T_i$  = efecto del extracto  $i$   
 $E_{ij}$  = error experimental

Con los resultados que se obtuvieron se identificaron los extractos vegetales con efecto antifúngico, a los cuales se determinó la concentración mínima del extracto que inhibe completamente el desarrollo micelial. Para esto se utilizó un diseño bifactorial completamente al azar con 3 repeticiones por tratamiento, que se basa en el siguiente modelo estadístico.

$$x_{ijk} = \mu + T_i + C_j + (TC)_{ij} + E_{ijk}$$

Donde:

$X_{ijk}$  = variable respuesta para el nivel  $T_i$  y  $C_j$  en la réplica  $k$   
 $\mu$  = media general  
 $T_i$  = efecto del extracto  $i$   
 $C_j$  = efecto de la concentración  $j$   
 $(TC)_{ij}$  = efecto de la interacción entre el factor  $T$  y el factor  $C$ , nivel  $ij$   
 $E_{ijk}$  = error experimental en cada repetición

### 2.8.3. Variable respuesta

- **Área de la colonia**

Esta variable se calculó con el área ocupada por cada colonia en el medio de cultivo al momento de realizar la lectura. El procedimiento consistió en calcar la colonia y después con papel milimetrado se calculó el área en  $\text{mm}^2$ .

- **Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial**

La actividad antifúngica de los extractos vegetales evaluados se midió por medio del porcentaje de inhibición del crecimiento micelial, mediante la siguiente fórmula: <sup>101</sup>

$$\% \text{ ICM} = \left( \frac{CDT - CDTi}{CDT} \right) \times 100$$

Donde:

% ICM: porcentaje de inhibición del crecimiento micelial

CDT: crecimiento diametral del testigo en mm

CDTi: crecimiento diametral del tratamiento i en mm

#### 2.8.4. Análisis experimental

Los resultados obtenidos en los tratamientos se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA). Se utilizó la transformación estadística arco seno  $\sqrt{\%}$  para los datos en porcentaje.

La hipótesis estadística fue la siguiente:

Ho: la varianza entre los tratamiento = 0

Ha: la varianza entre los tratamientos  $\neq$  0

En la prueba de F significativa se rechazó Ho cuando la F calculada fue mayor que la F tabular y se aceptó la Ha, con un  $\alpha = 0,05$ .

---

<sup>101</sup> Pyton, Revista Internacional de Botánica Experimental. *Evaluación in vitro de la actividad antifúngica de cuatro extractos vegetales metanólicos para el control de tres especies de Fusarium spp.* [http://www.revistaphyton.fund-romuloraggio.org.ar/vol81/9-OCHOA\\_FUENTES.pdf](http://www.revistaphyton.fund-romuloraggio.org.ar/vol81/9-OCHOA_FUENTES.pdf). (30/6/2014)

Cuando la diferencia entre los tratamientos fue significativa, debido al efecto individual de estos; se realizó la prueba de Tukey *con*  $\alpha = 0,05$ ;<sup>102</sup> para determinar cuál o cuáles de los tratamientos fueron diferentes.

## **2.9. Recursos**

### **2.9.1. Equipo**

Autoclave, incubadora, cámara de flujo horizontal, balanza analítica, estufa, microscopio óptico y refrigeradora.

### **2.9.2. Reactivos**

Agar-agar, dextrosa, carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ), agua desmineralizada, jugo V8 *Cambell's*, jugo V3 Ducal (tomate-apio-cebolla), etanol 95%, ácido láctico 50% e hipoclorito de sodio comercial.

### **2.9.3. Instrumentos, cristalería y materiales**

Asa microbiana, tubos de ensayo, cajas de petrí, *Beackers*, *Erlenmeyer*, cámara de *Neubauer*, pipetas automáticas, probetas, tubos de vidrio de 5mm de diámetro, gradillas, reglas de madera, papel *parafilm*, mecheros de alcohol, papas, fósforos, gradillas, algodón, papel aluminio y marcador permanente.

---

<sup>102</sup> Pedro Reyes Castañeda. *Diseño de experimentos aplicados*. (México: Editorial Trillas, 1984)



## CAPÍTULO 3 PRESENTACIÓN, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En este capítulo se presentan, analizan y discuten los resultados obtenidos en las evaluaciones de tolerancia de *F. oxysporum* y *A. solani* al alcohol etílico, determinación del efecto antifúngico de los doce extractos vegetales evaluados y diferentes dosis de los extractos con efecto inhibitorio en el crecimiento micelial de dichos hongos fitopatógenos.

### **Efecto de los extractos vegetales en *Fusarium oxysporum***

En el primer ensayo se evaluó el efecto del alcohol etílico al 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % y 3,125 % en el desarrollo de las colonias de los hongos fitopatógenos evaluados. Para *F. oxysporum* se determinó que el alcohol etílico tiene un efecto negativo en el crecimiento de las colonias debido a que las áreas que presentaron los tratamientos disminuyeron significativamente en comparación con el testigo sin alcohol como se muestra en el análisis de varianza. Por lo que se rechazó la hipótesis de que la varianza entre los tratamientos es nula.

**CUADRO 4  
ANÁLISIS DE VARIANZA DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE  
*Fusarium oxysporum* EN PLACAS AL 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % Y 3,125 % DE  
ALCOHOL ETÍLICO, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN,  
ALTA VERAPAZ, 2015**

<b>F V</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>Fo</b>	<b>Ft(0,05)</b>	<b>Ft(0,01)</b>
Tratamiento	4	1 080 513,48	270 128,37	<b>66,3479**</b>	3,33	5,64
Error	10	40 713,9167	4 071,3916			
Total	14	1 121 227,4				
C.V.= 21,12%				*Significativa, **Altamente significativa		

Fuente: Investigación de campo, 2015.

Cuando se evalúan las áreas medias presentadas por cada tratamiento con la prueba de Tukey (cuadro 5), se comprueba que al aumentar la concentración de alcohol 3,125 %; 6,25 %; 12,5 %; y 25,0 % se reduce el área de la colonia significativamente hasta un punto dónde los conidios de *F. oxysporum* son incapaces de germinar cuando el alcohol etílico está entre 12,5 % y 25,0 %.

**CUADRO 5**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE**  
***Fusarium oxysporum* EN PLACAS AL 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % Y 3,125 % DE**  
**ALCOHOL ETÍLICO, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN,**  
**ALTA VERAPAZ, 2015**

Tratamiento	Área media de la colonia (mm <sup>2</sup> )	W(0,05)=171,30			
Testigo	710,17	A			
1:32 = Alcohol 3,125 %	515,92	*	B		
1:16 = Alcohol 6,25 %	194,33	*	*	C	
1:8 = Alcohol 12,5 %	89,83	*	*	C	D
1:4 = Alcohol 25,0 %	0,00	*	*	*	D
*Diferencia significativa					

Fuente: Investigación de campo, 2015.

La disminución del área al 3,125 % y 6,5 % es significativa en cada tratamiento, a partir de esta última concentración el área de la colonia es menos pronunciada a tal punto que el efecto del alcohol etílico al 6,25 % y 12,5 % es similar estadísticamente (cuadro 5). Esto muestra que la tasa de crecimiento de las colonias en este rango pasa por una etapa estacionara a consecuencia de la reducción de su metabolismo al mínimo posible. Por otro lado, a concentraciones mayores a 12,5 % las condiciones que produce el alcohol en el medio de cultivo son demasiado hostiles hasta un punto intolerable para el hongo produciendo que las esporas queden en latencia exógena.

Con los datos obtenidos del área de la colonia en este ensayo (anexo 1), se determinó que el porcentaje más bajo de alcohol que se diferenció

estadísticamente fue al 3,125 % de alcohol etílico, lo que significa que el rango de tolerancia de *F. oxysporum* donde produce un área similar al testigo es menor a esta concentración.

De igual forma las diferencias entre los porcentajes de inhibición del crecimiento micelial por causa del efecto del alcohol en las concentraciones 25,0%; 12,5%; 6,25% y 3,125% es lo suficientemente alta para que al menos uno de los tratamientos sea diferente al testigo, lo que rechaza la hipótesis nula (cuadro 6).

**CUADRO 6**  
**ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL**  
**ALCOHOL ETÍLICO AL 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % Y 3,125 % EN EL**  
**CRECIMIENTO MICELIAL DE *Fusarium oxysporum*, 7 DÍAS DESPUÉS DE**  
**LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

F V	GL	SC	CM	Fo	Ft(0,05)	Ft(0,01)
Tratamiento	4	13 934,8081	3 483,7020	<b>94,4835**</b>	3,33	5,64
Error	10	368,7099	36,8710			
Total	14	14 303,5180				
C.V.= 14,34%		*Significativa, **Altamente significativa				

Fuente: Investigación de campo, 2015.

**CUADRO 7**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL**  
**ETÍLICO AL 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % Y 3,125 % EN EL CRECIMIENTO**  
**MICELIAL DE *Fusarium oxysporum*, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA**  
**INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

Tratamientos	Inhibición media (%)	Transformación $\arccoseno\sqrt{\%}$	W(0,05) = 16,30			
Testigo	0,00	0,00	A			
1:32 = Alcohol 3,125 %	14,93	22,24	*	B		
1:16 = Alcohol 6,25 %	48,22	43,99	*	*	C	
1:8 = Alcohol 12,5 %	67,01	55,53	*	*	C	D
1:4 = Alcohol 25,0 %	100,00	90,00	*	*	*	E

Fuente: Investigación de campo, 2015.

Con el ANDEVA (cuadro 6) y la prueba de Tukey (cuadro 7) se comprueba el efecto inhibitorio del alcohol etílico en el crecimiento de *F. oxysporum*, que alcanzó su punto máximo al 25,0 % de alcohol.

El porcentaje de crecimiento de la colonia se redujo casi a la mitad a una concentración de 6,25 %; a partir de este punto la colonia mostró más resistencia y el descenso en su crecimiento fue menos drástico, de tal manera que al 12,5 % de alcohol el porcentaje de inhibición fue de 67 %; lo anterior se comprueba en la prueba de Tukey (cuadro 7) donde el efecto inhibitorio entre 6,25 % y 12,5 % son estadísticamente similares.

Por otro lado, relacionando el punto de tolerancia como el tratamiento que produjo un porcentaje de inhibición que sea lo suficientemente pequeño para compararlo con el testigo, se identificó en la prueba de Tukey que dicho punto debe ser menor al 3,125 % de alcohol.

Con base a los resultados anteriores, se estableció un segundo ensayo de alcohol con diferentes concentraciones de alcohol etílico que fueron desde 3,5 %; 3,0 %; 2,5 %; 2,0 %; 1,5 %; 1,0 % a 0,5 %; más el testigo (anexo 2). En el análisis de varianza de este ensayo con respecto al área ocupada por la colonia de *F. oxysporum* se determinó que existía diferencia significativa entre los tratamientos, por lo cual se realizó la prueba de Tukey respectiva (cuadro 9).

**CUADRO 8**  
**ANÁLISIS DE VARIANZA DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE**  
***Fusarium oxysporum* EN PLACAS AL 3,5 %; 3,0 %; 2,5 %; 2,0 %; 1,5 %;**  
**1,0 % Y 0,5 % DE ALCOHOL ETÍLICO, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA**  
**INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

F V	GL	SC	CM	Fo	Ft(0,05)	Ft(0,01)
Tratamiento	7	5 089 74,8516	72 710,6931	<b>6,4962**</b>	2,66	4,03
Error	16	179 083,375	11 192,7109			
Total	23	688 058,2266				
C.V.= 13,71 % <span style="float: right;">*Significativa, **Altamente significativa</span>						

Fuente: Investigación de campo, 2015.



**CUADRO 9**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE**  
***Fusarium oxysporum* EN PLACAS AL 3,5 %; 3,0 %; 2,5 %; 2,0 %; 1,5 %;**  
**1,0 % Y 0,5 % EN DE ALCOHOL ETÍLICO, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA**  
**INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

Tratamiento	Área media de la colonia (mm <sup>2</sup> )	W(0,05)=299,30
Testigo	884,08	A
0,5% Alcohol	919,00	A
1,0 % Alcohol	922,67	A
1,5 % Alcohol	798,67	A
2,0 % Alcohol	805,83	A
2,5 % Alcohol	767,67	A
3,0 % Alcohol	558,08	*
3,5 % Alcohol	516,75	*
*Diferencia significativa		

Fuente: Investigación de campo, 2015.

Si se comparan las áreas medias de la colonia que se obtuvieron en cada tratamiento se puede identificar que al 0,5 %; 1,0 %; 1,5 %; 2,0 % y 2,5 % de alcohol etílico los tratamientos producen un área similar al testigo, pero es la concentración al 2,5 % la que se considera como el porcentaje máximo tolerable a partir del cual el crecimiento no difiere significativamente del presentado por el testigo (cuadro 9). Y es la diferencia significativa del área en las concentraciones al 3,0 % y 3,5 % la que se vincula directamente con la varianza entre tratamientos producto del efecto inhibitorio del alcohol.

De esta forma áreas iguales o mayores a 767,67 mm<sup>2</sup> ( $\pm$  81,54 mm<sup>2</sup>) pueden considerarse similares en tamaño a las que se producen en ausencia de alcohol en el medio de cultivo, bajo las condiciones ambientales que se proporcionarán en el laboratorio para *F. oxysporum*.

Asimismo, los resultados anteriores no se desvían de lo obtenido cuando se analiza el porcentaje de inhibición micelial de *F. oxysporum* en este segundo ensayo de tolerancia al alcohol etílico. Como se muestra en el cuadro 10 la varianza entre los tratamientos es significativa, dado que alguno de éstos produjo un porcentaje de inhibición que se diferencia estadísticamente de los demás como lo muestra la prueba de Tukey (cuadro 11).

**CUADRO 10**  
**ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL**  
**ALCOHOL ETÍLICO AL 3,5 %; 3,0 %; 2,5 %; 2,0 %; 1,5 %; 1,0 % Y 0,5 % EN**  
**EL CRECIMIENTO MICELIAL DE *Fusarium oxysporum*, 7 DÍAS DESPUÉS**  
**DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

F V	GL	SC	CM	Fo	Ft(0,05)	Ft(0,01)
Tratamiento	7	2 216,6914	316,6702	7,48**	2,66	4,03
Error	16	677,3685	42,3355			
Total	23	2 894,0599				
C.V.= 53,99 %				*Significativa, **Altamente significativa		

Fuente: Investigación de campo, 2015.

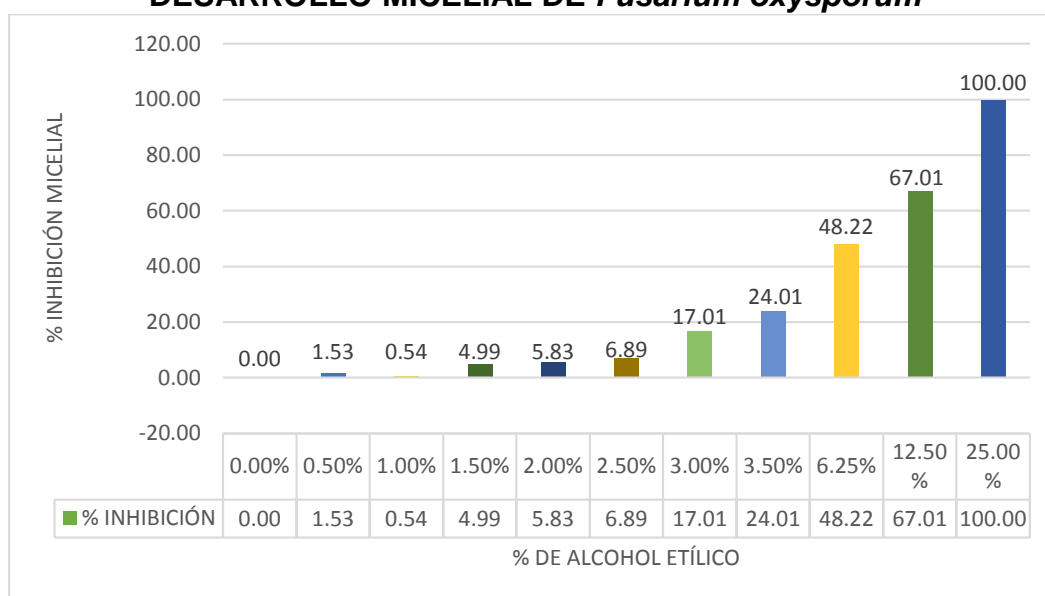
**CUADRO 11**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL**  
**ETÍLICO AL 3,5 %; 3,0 %; 2,5 %; 2,0 %; 1,5 %; 1,0 % Y 0,5 % EN EL**  
**CRECIMIENTO MICELIAL DE *Fusarium oxysporum*, 7 DÍAS DESPUÉS DE**  
**LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

Tratamientos	Inhibición media (%)	Transformación $\text{arcoseno}\sqrt{\%}$	W(0,05)=19,02
Testigo	0,00	0,00	A
0,5 % Alcohol	1,53	4,13	A
1,0 % Alcohol	0,54	2,42	A
1,5 % Alcohol	4,98	11,05	A
2,0 % Alcohol	5,83	11,38	A
2,5 % Alcohol	6,89	14,30	A
3,0 % Alcohol	17,01	26,82	*
3,5 % Alcohol	24,02	28,86	*
			*Diferencia significativa

Fuente: Investigación de campo, 2015.

En la prueba de Tukey del cuadro 11 se determinó que estadísticamente los tratamientos al 0,5 %; 1,0 %; 1,5 %; 2,0 % y 2,5 % de alcohol etílico son similares al testigo. De esta forma se identificó que un porcentaje de inhibición menor o igual a 6,89 % se considera aceptable, dado que el efecto que produce el alcohol etílico no es lo suficientemente significativo como para producir una disminución considerable en el crecimiento de la colonia mayor al que produce la aleatoriedad.

**GRÁFICA 1**  
**PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL ETÍLICO EN EL**  
**DESARROLLO MICELIAL DE *Fusarium oxysporum***



Fuente: Investigación de campo, 2015.

En la gráfica 1, se observa que al 2,5 % de alcohol etílico el porcentaje de inhibición del crecimiento de la colonia es bajo con relación al que producen concentraciones más altas y estadísticamente es similar a porcentajes más bajos. Por lo tanto, es la concentración máxima que tolera *F. oxysporum* sin que su crecimiento en área disminuya significativamente del testigo, se consideró al 2,5% como la concentración ideal para aplicar los extractos vegetales, sin que el efecto del alcohol sea el responsable de las variaciones significativas entre los tratamientos y evidenciar el efecto antifúngico de los extractos vegetales sobre *F. oxysporum*.

Al finalizar los ensayos de tolerancia al alcohol etílico se evaluó el efecto antifúngico de los 12 extractos vegetales seleccionados en el desarrollo micelial de *F. oxysporum*, a una concentración del 2,5 % de solución madre que se preparó (anexo 3).

En el ANDEVA de las variables respuestas de este ensayo, se determinó que la variación entre los tratamientos fue altamente significativa tanto para el área ocupada por la colonia como para el porcentaje de inhibición que produjo el uso del extracto vegetal al 2,5 %, como se muestra en los cuadros 12 y 13.

**CUADRO 12**  
**ANÁLISIS DE VARIANZA DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE *Fusarium oxysporum* EN PLACAS AL 2,5 % DE EXTRACTO VEGETAL, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

<b>F V</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>Fo</b>	<b>Ft(0,05)</b>	<b>Ft(0,01)</b>
Tratamiento	12	531 906,3173	44 325,5264	<b>16,05**</b>	2,15	2,96
Error	26	71 783,0000	2 760,8846			
Total	38	603 689,3173				
C.V.= 7,45 %				*Significativa, **Altamente significativa		

Fuente: Investigación de campo, 2015.

**CUADRO 13**  
**ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL ETÍLICO AL 2,5 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE *Fusarium oxysporum*, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

<b>F V</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>Fo</b>	<b>Ft(0,05)</b>	<b>Ft(0,01)</b>
Tratamiento	12	2 491,6612	207,6384	<b>24,42**</b>	2,15	2,96
Error	26	221,1183	8,5045			
Total	38	2 712,7794				
C.V.= 15,86 %				*Significativa, **Altamente significativa		

Fuente: Investigación de campo, 2015.

Al evaluar el área media producida por cada colonia en cada tratamiento con una prueba de Tukey (cuadro 14), se determinó que el extracto de *Azadirachta indica*, *Ricinus comunis* y *Gliricidia sepium* no presentan algún efecto antifúngico para *F. oxysporum*, al presentar un área media indistinta estadísticamente a la que produjo el testigo sin alcohol. Por otro lado, los extractos vegetales de *Plantago major*, *Annona squamosa*, *A. reticulata* y *A. diversifolia* presentaron el rango de áreas medias más bajo en comparación a las demás por su efecto negativo en el crecimiento de las colonias. Mientras que los extractos de *Sida rhombifolia*, *Chenopodium ambrosioides*, *Equisetum giganteum* y *Lippia alba* se consideran de actividad antifúngica moderada.

**CUADRO 14**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE**  
***Fusarium oxysporum* EN PLACAS AL 2,5 % DE EXTRACTO VEGETAL, 7**  
**DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

Tratamiento	Área (mm <sup>2</sup> )	W(0,05) = 148,34									
Testigo	896,33	A									
A. indica- semilla	826,00	A	B								
A. indica- follaje	825,75	A	B	C							
Ricinus comunis	812,83	A	B	C	D						
Gliricidia sepium	778,50	A	B	C	D	E					
Sida rhombifolia	723,17	*	B	C	D	E	F				
C. ambrosioides	707,50	*	B	C	D	E	F	G			
E. giganteum	679,33	*	B	C	D	E	F	G	H		
Lippia alba	676,42	*	*	*	D	E	F	G	H	I	
Plantago major	613,83	*	*	*	*	*	F	G	H	I	J
A. squamosa	577,83	*	*	*	*	*	F	G	H	I	J
A. reticulata	566,58	*	*	*	*	*	*	G	H	I	J
A. diversifolia	483,67	*	*	*	*	*	*	*	*	*	J

\*Diferencia significativa

Fuente: Investigación de campo, 2015.

Cuando se analiza el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial al tomar como parámetro el crecimiento diametral medio del testigo, se determinó con la prueba de Tukey (cuadro 15) que todos los tratamientos con extractos tienen un efecto inhibitorio en *F. oxysporum*. Los extractos de *Azadirachta indica*, *R. comunis*, *G. sepium*, *S. rhombifolia* y *C. ambrosioides* poseen un bajo porcentaje de inhibición comparable al 6,89 % que produjo el alcohol etílico a esa concentración, en el segundo ensayo de tolerancia al alcohol etílico. Por lo cual no se puede demostrar que estos extractos tienen algún ingrediente activo con efecto antifúngico debido a que la disminución diametral de la colonia de estos tratamientos puede deberse al alcohol presente en la solución madre.

**CUADRO 15**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL**  
**ETÍLICO AL 2,5 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE *F. oxysporum*,**  
**7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

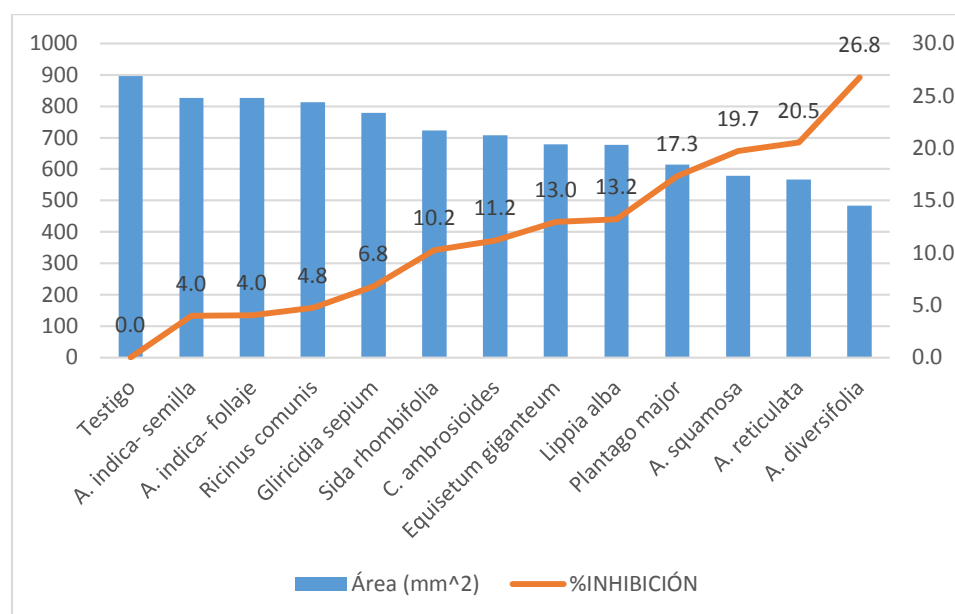
Tratamiento	Inhibición (%)	$\arcsen \sqrt{\frac{\%}{100}}$	W(0,05) = 8,66										
Testigo	0,00	0,00	A										
A. indica- semilla	4,01	11,31	*	B									
A. indica- follaje	4,02	11,40	*	B	C								
Ricinus comunis	4,77	12,56	*	B	C	D							
Gliricidia sepium	6,80	15,04	*	B	C	D	E						
Sida rhombifolia	10,23	18,43	*	B	C	D	E	F					
C. ambrosioides	11,19	19,39	*	B	C	D	E	F	G				
E. giganteum	12,97	21,02	*	*	*	D	E	F	G	H			
Lippia alba	13,20	21,13	*	*	*	D	E	F	G	H	I		
Plantago major	17,31	24,48	*	*	*	*	*	F	G	H	I	J	
A. squamosa	19,74	26,34	*	*	*	*	*	F	G	H	I	J	
A. reticulata	20,53	26,90	*	*	*	*	*	F	G	H	I	J	
A. diversifolia	26,78	31,04	*	*	*	*	*	*	*	*	*	J	

\*Diferencia significativa

Fuente: Investigación de campo, 2015.

Además de la prueba de Tukey anterior se puede señalar a los extractos de *Plantago major*, *Annona squamosa*, *A. reticulata* y *A. diversifolia* como los que presentan mayor actividad inhibitoria de todos los tratamientos evaluados; que coincide con ser los tratamientos donde se presentó la menor área de la colonia delineada en la placa (gráfica 2). En base a lo anterior y con la finalidad de definir cuáles son los extractos vegetales promisorios para el control de *F. oxysporum*, se seleccionaron estos cuatro tratamientos para definir la dosis mínima de extracto necesaria para inhibir totalmente el crecimiento de la colonia de este hongo fitopatógeno (anexo 4).

**GRÁFICA 2**  
**EFFECTO DE EXTRACTOS VEGETALES AL 2,5% EN EL DESARROLLO MICELIAL DE *Fusarium oxysporum***



Fuente: Investigación de campo, 2015.

El diseño estadístico para evaluar el efecto de los extractos de *Plantago major*, *Annona squamosa*, *A. reticulata* y *A. diversifolia* en el desarrollo micelial de *F. oxysporum* a distintas concentraciones fue un diseño bifactorial de 5 X 7. Al realizar el ANDEVA con el área ocupada por la colonia en la placa y el porcentaje de inhibición producido por el extracto a una determinada dosis se comprobó que

existe una diferencia altamente significativa entre los tipos de extractos, la dosis y la interacción entre estos dos factores, se muestra a continuación.

**CUADRO 16**  
**ANÁLISIS DE VARIANZA DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE**  
***Fusarium oxysporum* EN PLACAS AL 2,0 %; 3,0 %; 4,0 %; 5,0 %; 6,0 %;**  
**7,0 % Y 8,0 % DE EXTRACTO VEGETAL, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA**  
**INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

F V	GL	SC	CM	Fo	Ft(0,05)	Ft(0,01)
Tratamientos	34	9 165 107,89	269 561,996			
Extracto	6	1 688 186,74	281 364,46	60,24**	2,24	3,09
Dosis	4	6 780 474,46	1 695 118,62	362,91**	2,52	3,62
Interacción	24	696 446,69	29 018,61	6,21**	1,68	2,09
Error	70	326 963,12	4 670,90			
Total	104	9 492 071,00	91 269,91			
C.V.= 24,50 %		*Significativa, **Altamente significativa				

Fuente: Investigación de campo, 2015.

**CUADRO 17**  
**ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN POR EFECTO**  
**DE EXTRACTOS VEGETALES AL 2,0 %; 3,0 %; 4,0 %; 5,0 %; 6,0 %; 7,0 % Y**  
**8,0 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE *Fusarium oxysporum*, 7 DÍAS**  
**DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

F V	GL	SC	CM	Fo	Ft(0,05)	Ft(0,01)
Tratamientos	34	54 497,20	1 602,86			
Extracto	6	8 694,22	1 449,04	50,49**	2,24	3,09
Dosis	4	43 191,76	10 797,94	376,25**	2,52	3,62
Interacción	24	2 611,23	108,80	3,79**	1,68	2,09
Error	70	2 008,93	28,70			
Total	104	56 506,13	543,33			
C.V.= 13,76 %		*Significativa, **Altamente significativa				

Fuente: Investigación de campo, 2015.



Con respecto al efecto que producen los extractos en el área de las colonias se establece que la *Annona diversifolia* produce una disminución en el área mayor que la *Annona reticulata* en las diferentes concentraciones y que *Plantago major* produce un valor intermedio entre estos 2 tratamientos (cuadro 18); como *A. diversifolia*, *P. major* y *A. reticulata* son los extractos más efectivos para reducir el crecimiento micelial en área de *F. oxysporum* en comparación a *Annona squamosa* y el alcohol etílico.

**CUADRO 18**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE *Fusarium oxysporum* EN PLACAS POR EFECTO DEL EXTRACTO VEGETAL, COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

Tratamiento	Área media de la colonia (mm <sup>2</sup> )	W(0,05)= 59,21			
Alcohol	522,86	A			
A. squamosa	420,83	*	B		
A. reticulata	263,04	*	*	C	
P. major	232,07	*	*	C	D
A. diversifolia	185,06	*	*	*	D
*Diferencia significativa					

Fuente: Investigación de campo, 2015.

En cuanto al efecto inhibitorio que presentaron los extractos, se estableció (prueba de Tukey, cuadro 19) que el porcentaje medió de inhibición producido por *Annona diversifolia*, *Plantago major* y *Annona reticulada* en concentraciones entre 2 % y 8% de alcohol etílico es semejante estadísticamente. Siendo estos 3 tratamientos los que presentaron los porcentajes más altos de inhibición del crecimiento micelial de *F. oxysporum* en las placas de todos los extractos que se evaluaron, por lo cual poseen una alta actividad antifúngica para este hongo fitopatógeno.

En general *Annona squamosa* produjo una disminución del crecimiento micelial de *F. oxysporum* menor al que producen los otros 3 tratamientos. Aunque al evaluar este extracto al 2,5 % el efecto fue similar a la *Annona reticulata*, *Annona diversifolia* y *Plantago major* cuando se analizó su comportamiento inhibitorio en diferentes concentraciones entre 2 % y 8 % la *A. squamosa* se distinguió estadísticamente de los demás tratamientos (cuadro 19).

**CUADRO 19**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL DESARROLLO**  
**MICELIAL DE *Fusarium oxysporum* POR EFECTO DEL EXTRACTO**  
**VEGETAL; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

Tratamiento	Inhibición media (%)	Transformación $\arccoseno\sqrt{\%}$	W(0,05)= 4.64			
Alcohol	29,45	28,87	A			
A. squamosa	41,54	39,58	*	B		
A. reticulata	55,84	50,04	*	*	C	
P. major	57,38	50,87	*	*	C	D
A. diversifolia	61,22	53,11	*	*	C	D
*Diferencia significativa						

Fuente: Investigación de campo, 2015.

Por otro lado, al comparar las medias con la prueba de Tukey del efecto de las dosis en los diferentes extractos (cuadro 20) se determinó que la variación en el área que presentó la colonia en el medio de cultivo al aplicar los extractos al 2 % y 3 % es indistinta estadísticamente. Y que las áreas disminuyen drásticamente en concentraciones entre el 3 % y 6 % de extracto; a partir de este punto la variación producida por la reducción de áreas de colonias mostrada en las placas es menos evidente de tal manera que al 7% de extracto se produce un desarrollo micelial similar al que se obtuvo al 6% y 8%.

**CUADRO 20**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE**  
***Fusarium oxysporum* EN PLACAS POR EFECTO DE LA DOSIS; COBÁN,**  
**ALTA VERAPAZ, 2015**

Tratamiento	Área media de la colonia (mm <sup>2</sup> )	W(0,05)= 78,11					
2 %	702,68	A					
3 %	654,42	A	B				
4 %	425,75	*	*	C			
5 %	243,17	*	*	*	D		
6 %	140,67	*	*	*	*	E	
7 %	88,48	*	*	*	*	E	F
8 %	18,23	*	*	*	*	*	F
*Diferencia significativa							

Fuente: Investigación de campo, 2015.

Los resultados anteriores varían un poco si se analiza el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *F. oxysporum* con la prueba de Tukey correspondiente (cuadro 21), ya que el mayor efecto antifúngico de los extractos se presentó al 8 % en los distintos extractos que se evaluaron. Esta concentración produjo un crecimiento micelial casi nulo y se diferenció estadísticamente del efecto producido al 7 % y 6 %, rango donde el porcentaje de inhibición fue similar.

De igual forma el porcentaje inhibitorio que generaron los extractos al 2 % y 3 % es indistinto sin evaluar el tipo de extracto, mientras que las dosis al 4% y 5 % el crecimiento micelial inhibido es diferente para cada tratamiento. El efecto es directamente proporcional entre la dosis con el porcentaje de inhibición micelial del extracto, siendo el grado de variabilidad producida entre dosis lo que las diferencia.

**CUADRO 21**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL DESARROLLO**  
**MICELIAL DE *Fusarium oxysporum* POR EFECTO DE LA DOSIS; COBÁN,**  
**ALTA VERAPAZ, 2015**

Tratamiento	Inhibición media (%)	Transformación $\arccoseno\sqrt{\%}$	W(0,05)= 6,12							
			A	B	C	D	E	F	G	
2 %	14,10	18,717	A							
3 %	16,67	20,781	A	B						
4 %	34,28	34,583	*	*	C					
5 %	51,29	45,681	*	*	*	D				
6 %	64,27	53,674	*	*	*	*	E			
7 %	70,66	57,466	*	*	*	*	E	F		
8 %	92,31	80,556	*	*	*	*	*	*	G	
*Diferencia significativa										

Fuente: Investigación de campo, 2015.

Otro punto importante es la existencia de un efecto combinatorio que se produce por la interacción entre el extracto y la dosis, como se demostró en el ANDEVA del área de la colonia y el porcentaje de inhibición micelial (cuadros 16 y 17).

Esto se evidenció al comparar con la prueba de Tukey las medias del área de la colonia que se desarrolló al 8 % de *Annona diversifolia* y 8 % de *Annona squamosa*, ambos presentaron un desarrollo estadísticamente similar, pero cuando se evaluaron estos mismos extractos a una concentración del 6 % el efecto en la disminución del área fue mayor en la *A. diversifolia* que en la *A. squamosa*, es esta variación lo suficientemente alta para distinguir ambos tratamientos (cuadro 22).

**CUADRO 22**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE**  
***Fusarium oxysporum* EN PLACAS POR EFECTO DE LA INTERACCIÓN**  
**ENTRE EL EXTRACTO Y LA DOSIS; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

Tratamiento	Área media de la colonia (mm <sup>2</sup> )	W(0,05)= 156,65		
A. diversifolia 8 %	4,33	A		
A. squamosa 8 %	0,00	A		
A. diversifolia 6 %	4,58	*	B	
A. squamosa 6 %	222,67	*	*	C
*Diferencia significativa				

Fuente: Investigación de campo, 2015.

Al aumentar la dosis en *Annona squamosa* su efecto se intensifica de tal forma que puede igualar al que producen extractos con mayor actividad antifúngica como la *Annona diversifolia*, que en concentraciones más bajas presenta efectos inhibitorios mayores que este extracto a una misma concentración, en el crecimiento micelial de *F. oxysporum*, como se muestra en la prueba de Tukey del porcentaje de inhibición a continuación.

**CUADRO 23**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL DESARROLLO**  
**MICELIAL DE *F. oxysporum* POR EFECTO DE LA INTERACCIÓN ENTRE EL**  
**EXTRACTO VEGETAL Y LA DOSIS; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

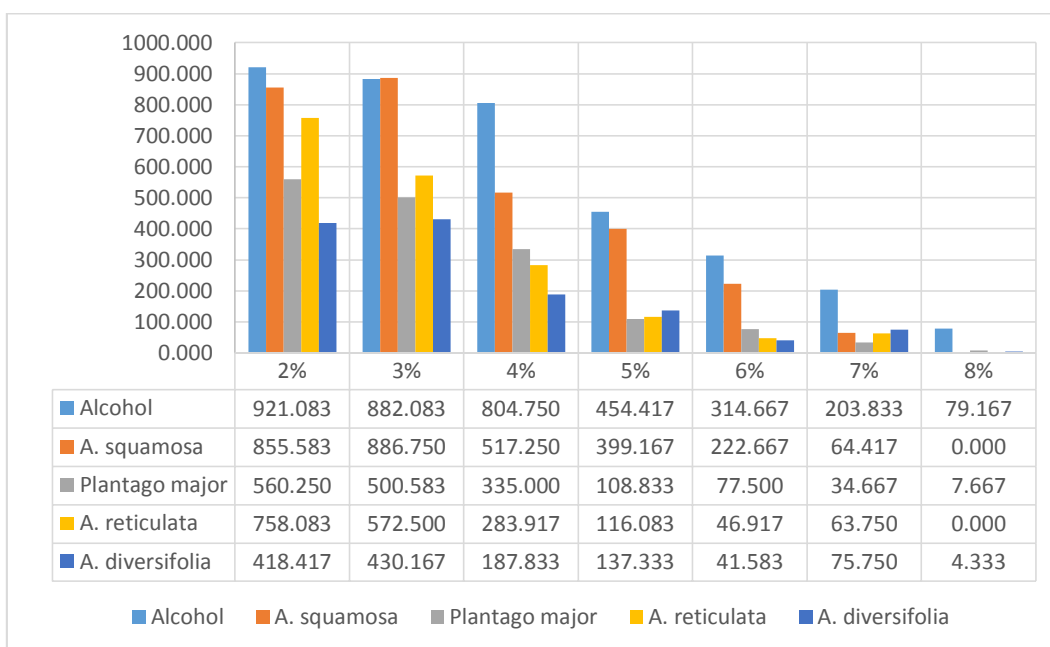
Tratamiento	Inhibición media (%)	Transformación $\arcseno\sqrt{\%}$	W(0,05)= 12,28		
A. diversifolia 8%	96,04	83,27	A		
A. squamosa 8%	100,00	90,00	A		
A. diversifolia 6%	79,05	62,86	*	B	
A. squamosa 6%	62,86	45,93	*	*	C
*Diferencia significativa					

Fuente: Investigación de campo, 2015.

En la anterior prueba se observa como ambos extractos al 8 % inhiben casi completamente el desarrollo micelial, por lo que su efecto es semejante; pero cuando se baja la concentración al 6 % en el caso de *Annona squamosa* en el porcentaje de inhibición fue de 63 % y el de *Annona diversifolia* 79 %, siendo estadísticamente distintos. Por lo tanto, los extractos pueden ser más efectivos cuando se aplican a concentraciones que pueden aumentar más su capacidad antifúngica

De todo lo anterior se concluye con respecto al área que se desarrolló en el medio por las colonias de *F. oxysporum* en los tratamientos con extracto de *Annona diversifolia*, *A. reticulata*, *A. squamosa* y *Plantago major* que una dosis del 8 % en todos los extractos producen un crecimiento casi nulo, por lo cual se considera como la dosis mínima que inhibe completamente el desarrollo micelial de este hongo fitopatógeno (gráfica 3).

**GRÁFICA 3**  
**ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE *Fusarium oxysporum* EN PLACAS AL 2,0 %; 3,0 %; 4,0 %; 5,0 %; 6,0 %; 7,0 % Y 8,0 % DE EXTRACTO VEGETAL**



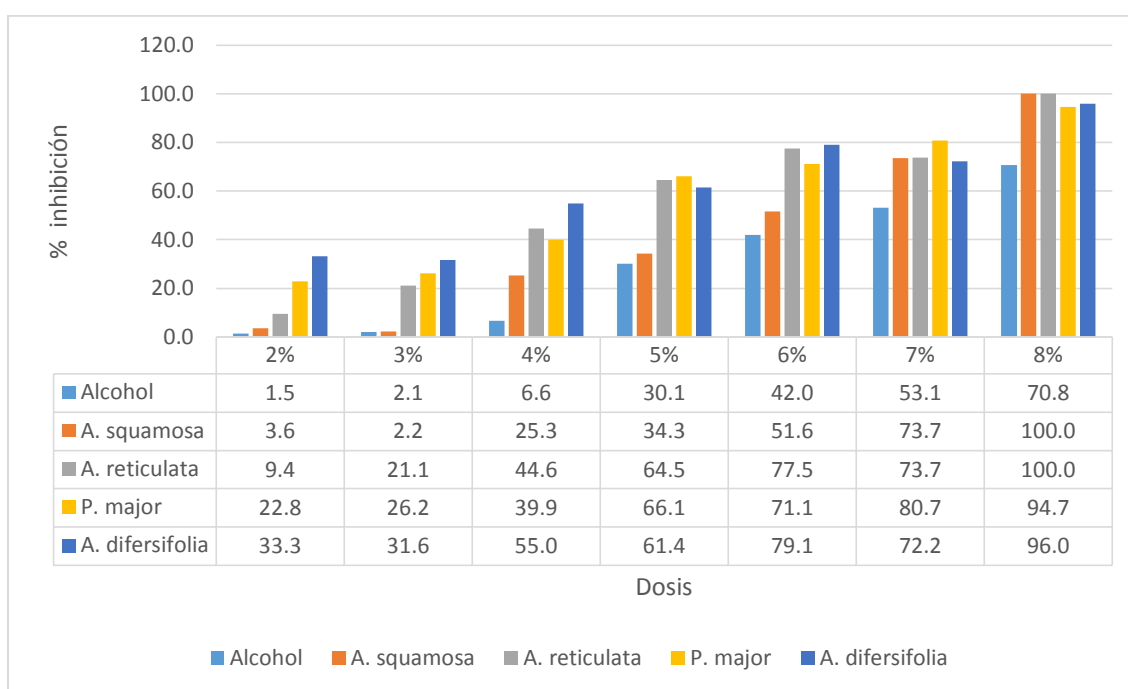
Fuente: Investigación de campo, 2015.

A bajas dosis entre 2 % y 3 % el extracto de *Annona diversifolia*, es el que muestra una alta reducción del área igual al 53 % en comparación al testigo con alcohol, que es la más significativa de todos los extractos que se evaluaron, a los que le sigue el extracto *Plantago major* y *Annona reticulata*.

Por otra parte, si se observa la leyenda de la gráfica 3 se evidencia claramente como a dosis bajas *A. squamosa* presentó una reducción del área muy baja en comparación con los otros tres extractos, pero conforme se aumenta la concentración de éste en el medio de cultivo, su efecto antifúngico se magnifica producto del efecto que produce la interacción dosis-extracto.

El efecto de la dosis que se mencionó anteriormente aumenta el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *F. oxysporum* de forma proporcional a ésta, como se observa en la gráfica 4.

**GRÁFICA 4**  
**PORCENTAJE DE INHIBICIÓN POR EFECTO DE EXTRACTOS VEGETALES**  
**AL 2,0 %; 3,0 %; 4,0 %; 5,0 %; 6,0 %; 7,0 % Y 8,0 % EN EL CRECIMIENTO**  
**MICELIAL DE *Fusarium oxysporum***



Fuente: Investigación de campo, 2015.

El porcentaje máximo de inhibición micelial para *F. oxysporum* se alcanzó a una dosis del 8 %, donde todos los extractos inhibieron entre un 95 % y 100 %. Ahora, si se considera efectivo para el control del crecimiento micelial de un patógeno porcentajes de inhibición superiores o iguales a un 70 %, se determinó que para *Annona diversifolia*, *Annona reticulata* y *Plantago major* el rango está entre un 5 % y 6 % de extracto y para *Annona squamosa* está entre un 6 % y 7 % de extracto.

### Efecto de los extractos vegetales en *Alternaria solani*

Como se estableció, en el primer ensayo se evaluaron concentraciones al 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % y 3,125 % de alcohol etílico en las placas, para determinar el efecto de este solvente en el desarrollo micelial de *Alternaria solani* (anexo 4).

En los resultados del análisis de varianza del área ocupada por la colonia en las placas (cuadro 24) se determinó que el efecto que produce el alcohol etílico en el crecimiento de *A. solani* es significativo, por lo cual se rechazó la hipótesis de que la varianza entre los tratamientos es nula, dado que al menos uno de los tratamientos difiere significativamente del testigo sin alcohol.

**CUADRO 24**  
**ANÁLISIS DE VARIANZA DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE**  
***Alternaria solani* EN PLACAS AL 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % Y 3,125 % DE**  
**ALCOHOL ETÍLICO, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN,**  
**ALTA VERAPAZ, 2015**

<b>F V</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>Fo</b>	<b>Ft(0,05)</b>	<b>Ft(0,01)</b>
Tratamiento	4	2 404 959,5	601 239,88	<b>172.43**</b>	3,33	5,64
Error	10	34 868,25	3 486,82			
Total	14	2 439 827,75				
C.V.=17,69 %		*Significativa, **Altamente significativa				

Fuente: Investigación de campo, 2015.



En el paso siguiente, se identificó con la prueba de Tukey (cuadro 25) que las áreas medias presentadas por cada tratamiento mostraron un decremento al aumentar la concentración del alcohol con respecto al testigo, hasta un punto crítico donde el hongo se ve completamente inhibido.

**CUADRO 25**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE**  
***Alternaria solani* EN PLACAS AL 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % Y 3,125 % DE**  
**ALCOHOL ETÍLICO, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN,**  
**ALTA VERAPAZ, 2015**

Tratamiento	Área media de la colonia (mm <sup>2</sup> )	W(0,05)=158,53		
Testigo	975,92	A		
1:32 = Alcohol 3,125 %	634,67	*	B	
1:16 = Alcohol 6,25 %	58,17	*	*	C
1:8 = Alcohol 12,5 %	0,00	*	*	C
1:4 = Alcohol 25,0 %	0,00	*	*	C
*Diferencia significativa				

Fuente: Investigación de campo, 2015.

Como se observa en el cuadro 25, los tratamientos que mostraron una mayor reducción del área ocupada por la colonia fueron al 6,25 %; 12,5 % y 25,0 % de alcohol, que son al mismo tiempo similares estadísticamente, a pesar de que en estas 2 últimas concentraciones el crecimiento micelial fue nulo.

A demás, se dio una reducción drástica del área a una concentración entre el 3,125 % y 6,15 % de alcohol etílico, con un decremento del 91 % del área, mientras que en el rango por debajo del 3,125 % de alcohol el decremento fue del 35 %. Esto indica que el grado de tolerancia de *Alternaria solani* es mayor a bajas concentraciones de alcohol, pero conforme aumenta la concentración su susceptibilidad también es drástica,

Dado que se quiso encontrar un tratamiento con un porcentaje de alcohol etílico que produzca un área semejante al testigo, se determinó con la prueba de Tukey del cuadro 25, que se debe encontrar por debajo del 3,125 %, ya que esta fue la menor concentración que se diferenció del testigo sin alcohol, en esta primera prueba de tolerancia.

De igual forma, en el ANDEVA (cuadro 26) se comprobó el efecto inhibitorio del alcohol etílico en el crecimiento micelial de *A. solani*, debido a que el porcentaje de inhibición de los tratamientos al 25,0%; 12,5%; 6,25% y 3,125% de alcohol produjo una variación significativa con relación al testigo, por lo cual se rechazó la hipótesis nula que todos los tratamientos producen el mismo efecto.

#### CUADRO 26

##### ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL ETÍLICO AL 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % Y 3,125 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE *Alternaria solani*, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015

F V	GL	SC	CM	Fo	Ft(0,05)	Ft(0,01)
Tratamiento	4	19 130,64	4782,66	<b>198,35**</b>	3,33	5,64
Error	10	241,12	24,11			
Total	14	19 371,77				
C.V.= 9,11 %		*Significativa, **Altamente significativa				

Fuente: Investigación de campo, 2015.

Con la prueba de Tukey (cuadro 27) se evidenció la relación entre la concentración de alcohol etílico y el porcentaje de inhibición micelial del hongo, de tal forma que al aumentar la concentración se aumentó proporcionalmente el efecto inhibitorio, hasta que alcanzó un punto intolerable para *A. solani*, donde el crecimiento micelial fue nulo debido a que los conidios quedaron en latencia por las condiciones hostiles del medio.

**CUADRO 27**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL**  
**ETÍLICO AL 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % Y 3,125 % EN EL CRECIMIENTO**  
**MICELIAL DE *Alternaria solani*, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN;**  
**COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

Tratamientos	Inhibición media (%)	Transformación $\text{arcoseno}\sqrt{\%}$	W(0,05) = 13,18			
Testigo	0,00	0,00	A			
1:32 = Alcohol 3,125 %	19,35	26,06	*	B		
1:16 = Alcohol 6,25 %	78,57	63,40	*	*	C	
1:8 = Alcohol 12,5 %	100,00	90,00	*	*	*	D
1:4 = Alcohol 25,0 %	100,00	90,00	*	*	*	D

Fuente: Investigación de campo, 2015.

Con los resultados obtenidos de la anterior prueba de Tukey se determinó que el efecto máximo inhibitorio del crecimiento micelial de *A. solani* se alcanzó a concentraciones entre 6,25 % y 12,5 %, considerándose este último porcentaje de alcohol como la dosis mínima que inhibió completamente a este hongo, por lo tanto el efecto que presentó este tratamiento es semejante estadísticamente al que produjo una concentración al 25,0 %.

De los porcentajes de inhibición media que alcanzó cada tratamiento, la mayor variación se dio al 6,25 % de alcohol, inhibiendo el desarrollo un 59 % más que el tratamiento al 3,125 % que presentó un 19 % de inhibición micelial, por lo cual por debajo de esta última concentración *A. solani* tiene un mayor grado de tolerancia a este solvente sin alterar sus funciones fisiológicas fuertemente.

Por lo cual, al determinar el porcentaje de inhibición micelial que quede dentro del rango aceptable para ser semejante estadísticamente al testigo, se determinó con la prueba de Tukey del cuadro 27, que este se debe encontrarse por debajo del 3,125 %.

Con base al análisis anterior del primer ensayo de tolerancia al alcohol de *A. solani* en sus dos variables respuestas, se estableció un segundo ensayo con concentración de alcohol etílico igual al 3,5 %; 3,0 %; 2,5 %; 2,0 %; 1,5 %; 1,0 % y 0,5 % más un testigo sin alcohol (anexo 6).

En el ANDEVA (cuadro 28) del área de la colonia se determinó que la diferencia entre los tratamientos fue significativa, por lo que se evaluaron las medias de los tratamientos con una prueba de Tukey (cuadro 29).

**CUADRO 28**  
**ANÁLISIS DE VARIANZA DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE**  
***Alternaria solani* EN PLACAS AL 3,5 %; 3,0 %; 2,5 %; 2,0 %; 1,5 %; 1,0 % Y**  
**0,5 % DE ALCOHOL ETÍLICO, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN;**  
**COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

F V	GL	SC	CM	Fo	Ft(0,05)	Ft(0,01)
Tratamiento	7	352 307,90	50 329,70	<b>7,35**</b>	2,66	4,03
Error	16	109 504,18	6 844,01			
Total	23	461 812,08				
C.V.= 8,19 %		*Significativa, **Altamente significativa				

Fuente: Investigación de campo, 2015.

**CUADRO 29**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE**  
***Alte solani* EN PLACAS AL 3,5 %; 3,0 %; 2,5 %; 2,0 %; 1,5 %; 1,0 % Y 0,5 %**  
**DE ALCOHOL ETÍLICO, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN,**  
**ALTA VERAPAZ, 2015**

Tratamiento	Área media de la colonia (mm <sup>2</sup> )	W(0,05)=234,04
Testigo	1 144,50	A
0,5% Alcohol	1 118,25	A
1,0 % Alcohol	1 123,28	A
1,5 % Alcohol	1 070,78	A
2,0 % Alcohol	1 052,08	A
2,5 % Alcohol	850,25	*
3,0 % Alcohol	858,25	*
3,5 % Alcohol	865,83	*
*Diferencia significativa		

Fuente: Investigación de campo, 2015.

Con la prueba de Tukey se determinó que los porcentajes 0,5 %; 1,0 %; 1,5 % y 2,0 % de alcohol etílico producen un área semejante al testigo, con una variabilidad dentro del rango permisible.

De estos tratamiento se estableció la concentración al 2,0 % de alcohol como la dosis máxima tolerable para *A. solani*, donde el área de la colonia no difiere significativamente del testigo. Es decir, que a concentraciones por debajo del 2 % presentan la variabilidad que se produce por efecto del alcohol es similar al que se da por efectos de la aleatoriedad entre las repeticiones del testigo.

A demás, a concentraciones mayores al 2,0 % de alcohol etílico, el área es menor a 1 052,08 mm<sup>2</sup> ( $\pm$  19,5 mm<sup>2</sup>), por lo que se produce un decremento del área superior al 8 %, lo que dio como resultado que las áreas medias de los tratamientos al 2,5 %, 3,0 % y 3,5 % de alcohol se diferenciaron estadísticamente del testigo (cuadro 29).

Por otra parte, en el ANDEVA del porcentaje de inhibición del alcohol etílico al 3,5 %; 3,0 %; 2,5 %; 2,0 %; 1,5 %; 1,0 % y 0,5 % (cuadro 30), se comprobó que entre las dosis evaluadas la varianza que producen los tratamientos es significativa para uno o más tratamientos, lo que descarta la posibilidad que el efecto inhibitorio del alcohol en el desarrollo micelial de *A. solani* fue nulo.

**CUADRO 30**  
**ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL**  
**ALCOHOL ETÍLICO AL 3,5 %; 3,0 %; 2,5 %; 2,0 %; 1,5 %; 1,0 % Y 0,5 % EN**  
**EL CRECIMIENTO MICELIAL DE *Alternaria solani*, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA**  
**INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

F V	GL	SC	CM	Fo	Ft(0,05)	Ft(0,01)
Tratamiento	7	1440,40	205,77	<b>8,73**</b>	2,66	4,03
Error	16	376,94	23,56			
Total	23	1817,34				
C.V.= 39,99 %				*Significativa, **Altamente significativa		

Fuente: Investigación de campo, 2015.

Descartando la hipótesis inicial o nula, se realizó la prueba de Tukey (cuadro 31) para determinar las diferencias significativas. De esta forma se estableció que las concentraciones al 0,5 %; 1,0 %; 1,5 % y 2,0 % de alcohol etílico producen un efecto inhibitorio por debajo del 4 % en el crecimiento micelial de *A. solani*. Este porcentaje de inhibición se considera dentro del rango permisible, lo que dio como resultado que los tratamientos se consideraran estadísticamente similares al testigo.

Por encima de un 4 % de inhibición del desarrollo micelial de *A. solani*, las variaciones se consideran significativas, dado que los tratamientos al 2,5 %; 3,0 % y 3,5 % se diferenciaron estadísticamente de los demás.

**CUADRO 31**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL ETÍLICO AL 3,5 %; 3,0 %; 2,5 %; 2,0 %; 1,5 %; 1,0 % Y 0,5 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE *Alternaria solani*, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

Tratamientos	Inhibición media (%)	Transformación $\arccoseno\sqrt{\%}$	W(0,05)=13,73
Testigo	0,00	0,00	A
0,5 % Alcohol	1,14	5,66	A
1,0 % Alcohol	2,75	7,39	A
1,5 % Alcohol	3,41	8,45	A
2,0 % Alcohol	4,11	11,57	A
2,5 % Alcohol	13,87	21,65	*
3,0 % Alcohol	13,47	21,30	*
3,5 % Alcohol	13,06	21,08	*
*Diferencia significativa			

Fuente: Investigación de campo, 2015.

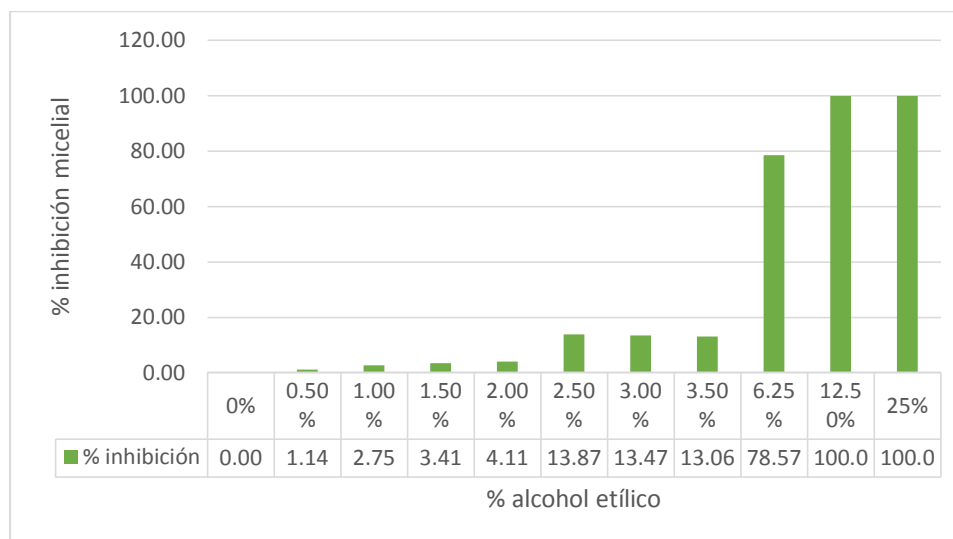
Con los anteriores resultados se determinó que al 2,0 % es la máxima concentración de alcohol etílico que puede presentar el medio de cultivo sin que el efecto inhibitorio de este solvente presente en los extractos pueda producir una

variación significativa en el crecimiento de *A. solani*; por lo cual en esta concentración se considera estadísticamente nulo el efecto del alcohol.

El comportamiento general del porcentaje de inhibición del alcohol etílico en el desarrollo de *A. solani* a diferentes dosis se presenta en la gráfica 5. En la cual se observa que las concentraciones por debajo del 3,5 % de alcohol, la disminución en el porcentaje de crecimiento de la colonia se da gradualmente hasta un 13 %. A partir de este punto, el hongo es más susceptible al efecto del alcohol y presenta una disminución del 66 % en su crecimiento entre el 3,50 % y 6,25 % de alcohol etílico.

Se presentó el porcentaje máximo de inhibición al 12,5 %, donde los conidios de *A. solani* no germinaron y entonces el crecimiento micelial fue nulo. Esto indica que el efecto del alcohol se extiende hasta un punto crítico donde induce una latencia exógena en los conidios del hongo.

**GRÁFICA 5**  
**PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL ETÍLICO EN EL**  
**DESARROLLO MICELIAL DE *Alternaria solani***



Fuente: Investigación de campo, 2015.

Al concluir las pruebas de tolerancia al alcohol etílico de *A. solani*, se realizó la evaluación del efecto antifúngico de los 12 extractos vegetales preparados que se diluyeron en el medio al 2,0 % (anexo 7).

Con los resultados obtenidos se llevó a cabo el ANDEVA de cada variable respuesta y se determinó tanto con la medición del área de la colonia y el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial que algún o algunos extractos producen un efecto antifúngico dado que la varianza entre los tratamientos fue altamente significativa en ambos análisis (cuadros 32 y 33).

**CUADRO 32**  
**ANÁLISIS DE VARIANZA DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE**  
***A. solani* EN PLACAS AL 2,0 % DE EXTRACTO VEGETAL, 7 DÍAS**  
**DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

F V	GL	SC	CM	Fo	Ft(0,05)	Ft(0,01)
Tratamiento	12	628 212,81	52 351,07	16,07**	2,15	2,96
Error	26	84 683,58	3 257,06			
Total	38	712 896,40				
C.V.= 5,00 %				*Significativa, **Altamente significativa		

Fuente: Investigación de campo, 2015.

**CUADRO 33**  
**ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL**  
**ALCOHOL ETÍLICO AL 2,0 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE *A. solani*,**  
**7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

F V	GL	SC	CM	Fo	Ft(0,05)	Ft(0,01)
Tratamiento	12	1 690,01	140,83	11,90**	2,15	2,96
Error	26	307,79	11,84			
Total	38	1 997,79				
C.V.= 31,8 %				*Significativa, **Altamente significativa		

Fuente: Investigación de campo, 2015.



Con la prueba de Tukey del área delineada por la colonia en las placas (cuadro 34), se determinó que los extractos de *Ricinus comunis*, *Azadirachta indica-semilla*, *Sida rhombifolia*, *Annona reticulata*, *Annona diversifolia*, *Annona squamosa*, *Plantago major*, *Lippia alba*, *Chenopodium ambrosioides* y *Equisetum giganteum* no produjeron un decremento significativo en el área de la colonia en comparación a la que presentaron las placas del testigo, por lo cual no poseen actividad antifúngica durante el desarrollo y crecimiento del micelio de *A. solani*.

**CUADRO 34**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE**  
***Alternaria solani* EN PLACAS AL 2,0 % DE EXTRACTO VEGETAL, 7 DÍAS**  
**DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

Tratamiento	Área (mm <sup>2</sup> )	W(0,05) = 161,12											
<i>Testigo</i>	1 254,50	A											
<i>Ricinus comunis</i>	1 238,42	A	B										
<i>A. indica- semilla</i>	1 218,92	A	B	C									
<i>Sida rhombifolia</i>	1 207,42	A	B	C	D								
<i>A. reticulata</i>	1 204,08	A	B	C	D	E							
<i>A. diversifolia</i>	1 172,50	A	B	C	D	E	F						
<i>Plantago major</i>	1 168,92	A	B	C	D	E	F	G					
<i>Lippia alba</i>	1 167,75	A	B	C	D	E	F	G	H				
<i>A. squamosa</i>	1 162,92	A	B	C	D	E	F	G	H	I			
<i>C. ambrosioides</i>	1 118,00	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J		
<i>E. giganteum</i>	1 116,67	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J		
<i>A. indica- follaje</i>	1 069,83	*	*	C	D	E	F	G	H	I	J		
<i>Gliricidia sepium</i>	736,75	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	K

\*Diferencia significativa

Fuente: Investigación de campo, 2015.

Los únicos extractos que se diferenciaron significativamente del testigo fueron los derivados del follaje de *Azadirachta indica* y *Gliricidia sepium*. Siendo éste último fue el más distintivo entre los 12 evaluados, ya que presentó el área media de menor magnitud que no se puede comparar con ningún otro tratamiento, al mismo tiempo, el más efectivo para disminuir el crecimiento de *A. solani* al 2,0 % de concentración.

**CUADRO 35**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ALCOHOL ETÍLICO AL 2,0 % EN EL CRECIMIENTO MICELIAL DE *Alternaria solani*, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

Tratamiento	Inhibición %	$arco\ \text{seno}\sqrt{\%}$	W(0,05) = 9,71															
<i>Testigo</i>	0,00	0,00	A															
<i>Ricinus comunis</i>	0,69	5,94	A	B														
<i>A. indica- semilla</i>	1,42	6,04	A	B	C													
<i>Sida rhombifolia</i>	1,90	6,14	A	B	C	D												
<i>A. reticulata</i>	2,02	8,12	A	B	C	D	E											
<i>A. diversifolia</i>	3,33	10,11	*	B	C	D	E	F										
<i>Plantago major</i>	3,47	10,47	*	B	C	D	E	F	G									
<i>Lippia alba</i>	3,51	10,72	*	B	C	D	E	F	G	H								
<i>A. squamosa</i>	3,72	10,88	*	B	C	D	E	F	G	H	I							
<i>C. ambrosioides</i>	5,60	13,55	*	B	C	D	E	F	G	H	I	J						
<i>E. giganteum</i>	5,65	13,72	*	B	C	D	E	F	G	H	I	J						
<i>A. indica- follaje</i>	7,64	16,07	*	*	*	*	*	F	G	G	I	J						
<i>Gliricidia sepium</i>	23,54	28,88	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	K

\*Diferencia significativa

Fuente: Investigación de campo, 2015.

En cuanto al efecto inhibitorio de los extractos a una dosis del 2,0 %; se identificó con la prueba de Tukey de los porcentajes de inhibición medios (cuadro 35), que los extractos de *Ricinus comunis*, *semilla de Azadirachta indica*, *Sida rhombifolia* y *Annona reticulata* produjeron una disminución en el crecimiento de *A. solani* menor o igual al 2 %, que estadísticamente no es significativo para considerarse diferente al que presenta el testigo, por lo que su efecto antifúngico puede estimarse como nulo.

Ahora bien, estos cuatro extractos se puede considerar que producen efectos semejantes a los de *Annona diversifolia*, *Plantago major*, *Lippia alba*, *Annona squamosa*, *Chenopodium ambrosioides* y *Equisetum giganteum* de acuerdo con la prueba de Tukey, por lo cual aunque se distinguen del testigo se consideran de mínima actividad inhibitoria por solo reducir entre un 3,33 % y 5,65 % el crecimiento de *A. solani*.

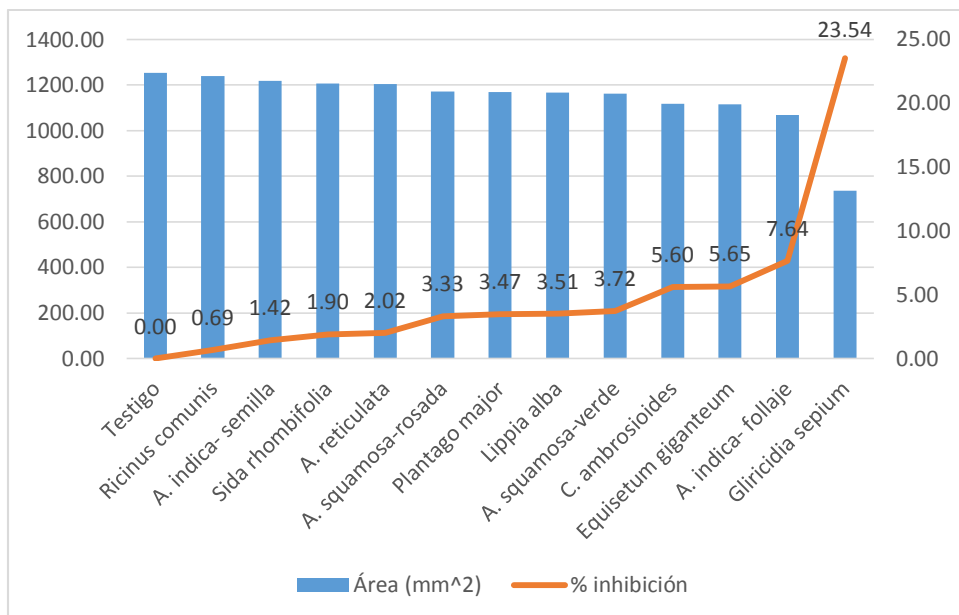
Claramente como se observa en el cuadro anterior, el que presentó el mayor efecto inhibitorio en el crecimiento micelial de *A. solani* fué el de *Gliricidia sepium* después le sigue *Azadirachta indica* (follaje). Pues aunque su efecto fue mayor, son distintos estadísticamente, siendo el de *G. sepium* el único extracto que se diferenció de todos los tratamientos y el más efectivo a esta dosis.

En general el efectos de los extractos vegetales sobre el desarrollo micelial de *A. solani* a una dosis del 2,0 % se representa en el gráfica 6, donde se evidencia la relación inversa que hay entre las dos variables respuestas, ya que al aumentar el porcentaje de inhibición micelial, disminuye el área que presenta la colonia en la placa.

Al evaluar el efecto de los 12 extractos en *A. solani*, los dos análisis que se realizaron para ambas variables coinciden que el extracto de mayor actividad inhibitoria de los extractos que se evaluaron fue el de *Gliricidia sepium* con un porcentaje de inhibición del 23,5 % y un área de 736,45 mm<sup>2</sup> (gráfica 6) el cual

resaltó evidentemente sobre todos los demás. Después le sigue *Azadirachta indica* (follaje) que puede ser comparable a extractos con valores cercanos a este, pero distinguible en crecimiento y tamaño del testigo.

**GRÁFICA 6**  
**EFFECTO DE EXTRACTOS VEGETALES AL 2,0% EN EL DESARROLLO**  
**MICELIAL DE *Alternaria solani***



Fuente: Investigación de campo, 2015.

Como evaluación final, mediante un diseño bifactorial de 3 X 4 se identificó la dosis mínima inhibitoria necesaria para evitar el desarrollo y crecimiento de *Alternaria solani* totalmente en la placa. Los extractos evaluados fueron *Gliricidia sepium* y *Azadirachta indica* (follaje) comparados con un testigo con alcohol etílico a la misma dosis que los tratamientos de los extractos (anexo 8).

Tanto en el ANDEVA del área ocupada por la colonia en la placa como el de porcentaje de inhibición de cada tratamiento se determinó que el efecto de los extractos, dosis y la interacción de estos dos factores producen una varianza significativa en comparación al alcohol etílico, lo que permite descartar la hipótesis

que todos los tratamientos producen los mismos efectos en las colonias de *A. solani in vitro*, como se muestra en los siguientes cuadros:

**CUADRO 36**  
**ANÁLISIS DE VARIANZA DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE**  
***Alternaria solani* EN PLACAS AL 2,0 %; 3,0 %; 4,0 % Y 5,0 % DE EXTRACTO**  
**VEGETAL, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA**  
**VERAPAZ, 2015**

F V	GL	SC	CM	Fo	Ft(0,05)	Ft(0,01)
Tratamientos	11	4 818 454,72	438 041,34			
Extracto	3	1 298 169,23	432 723,08	39,90**	3,01	4,72
Dosis	2	2 985 488,85	1 492 744,42	137,63**	3,40	5,61
Interacción	6	534 796,64	89 132,77	8,22**	2,51	3,67
Error	24	260 311,88	10 846,33			
Total	36	5 078 766,60	141 076,85			
C.V.= 20,03 %				*Significativa, **Altamente significativa		

Fuente: Investigación de campo, 2015.

**CUADRO 37**  
**ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN POR EFECTO**  
**DE EXTRACTOS VEGETALES AL 2,0 %; 3,0 %; 4,0 % Y 5,0 % EN EL**  
**CRECIMIENTO MICELIAL DE *Alternaria solani*, 7 DÍAS DESPUÉS DE LA**  
**INOCULACIÓN; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

F V	GL	SC	CM	Fo	Ft(0,05)	Ft(0,01)
Tratamientos	11	23 762,24	2 160,20			
Extracto	3	4 944,77	1 648,26	50,53**	3,01	4,72
Dosis	2	14 705,29	7 352,65	225,39**	3,40	5,61
Interacción	6	4 112,17	685,36	21,01**	2,51	3,67
Error	24	782,91	32,62			
Total	36	24 545,15	681,81			
C.V.= 19,76 %				*Significativa, **Altamente significativa		

Fuente: Investigación de campo, 2015.

Dado que el efecto de los extractos produce una varianza significativa, mediante la prueba de Tukey de las áreas medias de las colonias (cuadro 38), se identificó que los extractos de *Gliricidia sepium* y *Azadirachta indica* (follaje) producen valores muy similares de áreas en promedio a las diferentes dosis por extracto. Pero como se evidencia en el cuadro 28, el decremento del área media es superior estadísticamente al que produce el alcohol etílico, tal diferencia está directamente relacionada con las propiedades antifúngicas de los extractos.

**CUADRO 38**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE**  
***Alternaria solani* EN PLACAS POR EFECTO DEL EXTRACTO VEGETAL;**  
**COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

Tratamiento	Área media de la colonia (mm <sup>2</sup> )	W(0,05)= 106,13	
Alcohol	918,48	A	
<i>Gliricidia sepium</i>	522,19	*	B
<i>A. indica</i> (follaje)	509,42	*	B
*Diferencia significativa			

Fuente: Investigación de campo, 2015.

Con respecto al porcentaje de inhibición micelial, los extractos de *G. sepium* y *A. indica* (follaje) presentaron efectos muy similares, como se muestra en la prueba de Tukey del cuadro 39. La reducción en la tasa de crecimiento de la colonia de *A. solani* por la acción de estos dos extractos fue mayor de la que produce el alcohol etílico por sí solo en promedio a las diferentes dosis. De esta forma es evidente que los extractos vegetales poseen ingredientes activos que impiden el desarrollo y crecimiento del hongo en las placas, cuyo efecto antifúngico es mayor al generado por el alcohol etílico.

**CUADRO 39**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL DESARROLLO**  
**MICELIAL DE *Alternaria solani* POR EFECTO DEL EXTRACTO VEGETAL;**  
**COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

Tratamiento	Inhibición media (%)	Transformación $\arccoseno\sqrt{\%}$	W(0,05)= 5,82	
Alcohol	13,99	6,97	A	
Gliricidia sepium	43,89	43,96	*	B
A. indica (follaje)	46,42	45,55	*	B
*Diferencia significativa				

Fuente: Investigación de campo, 2015.

Por otra parte, el efecto de la dosis que se utilizó produjo como factor una varianza significativa entre los tratamientos indistintamente del tipo de extracto. Con la prueba de Tukey del área media de la colonia (cuadro 40) se identificó que cada concentración al 2,0 %; 3,0 %; 4,0 % y 5,0 % produce un decremento distinto y que la disminución se dio de forma proporcional a la concentración, dado que una mayor concentración produce una mayor reducción del área de la colonia del hongo.

**CUADRO 40**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE**  
***Alternaria solani* EN PLACAS POR EFECTO DE LA DOSIS; COBÁN, ALTA**  
**VERAPAZ, 2015**

Tratamiento	Área media de la colonia (mm <sup>2</sup> )	W(0,05)= 135,39			
2 %	1 034,61	A			
3 %	763,11	*	B		
4 %	554,81	*	*	C	
5 %	247,58	*	*	*	D
*Diferencia significativa					

Fuente: Investigación de campo, 2015.

De igual forma en la prueba de Tukey del porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (cuadro 41) cuando se evalúan las diferentes dosis, se muestra cómo al 2,0 % y 3,0 % la variación entre medias está dentro del rango aceptable, por lo cual son dosis que poseen efectos similares. Pero concentraciones más altas como 4,0 % y 5,0 % tienen efectos inhibitorios que las distinguen por separado, aumentando conforme la concentración.

**CUADRO 41**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL DESARROLLO MICELIAL DE *Alternaria solani* POR EFECTO DE LA DOSIS APLICADA; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

Tratamiento	Inhibición media (%)	Transformación $\arccos \sqrt{\%}$	W(0,05)= 7,42			
2 %	8,60	12,62	A			
3 %	21,22	18,68	A	B		
4 %	35,21	28,05	*	*	C	
5 %	74,04	69,30	*	*	*	D
*Diferencia significativa						

Fuente: Investigación de campo, 2015.

Como se demostró anteriormente, el efecto que se produce por la interacción entre el extracto y la dosis fue significativo para las dos variables respuestas que se utilizaron.

En el caso del área ocupada por la colonia en las placas de acuerdo a la prueba de Tukey del cuadro 42, se muestra como a una dosis de 2,0 % el alcohol y el extracto de *Azadirachta indica* (follaje) produjeron resultados semejantes, mientras que solo el extracto de *Gliricidia sepium* se diferenció significativamente a esta concentración. Pero al aumentar la dosis el efecto del extracto de *A. indica* se intensifica de tal forma que a una concentración del 5,0 % el hongo no pudo



desarrollarse en la placa al igual que en los medios con extracto de *G. sepium* al 5,0 %; caso contrario al alcohol que a esta concentración el hongo pudo crecer, lo que hizo que se diferenciara significativamente de los otros tratamientos.

**CUADRO 42**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE**  
***Alternaria solani* EN PLACAS POR EFECTO DE LA INTERACCIÓN ENTRE**  
**EL EXTRACTO Y LA DOSIS; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

Tratamiento	Área media de la colonia (mm <sup>2</sup> )	W(0,05)= 212,25			
Alcohol 2,0 %	1 162,17	A			
<i>A. indica</i> (follaje) 2,0%	1 069,83	A	B		
<i>G. sepium</i> 2,0 %	871,83	*	B		
Alcohol 5,0 %	742,75			C	
<i>A. indica</i> (follaje) 5,0%	0,00			*	D
<i>G. sepium</i> 5,0 %	0,00			*	D
*Diferencia significativa					

Fuente: Investigación de campo, 2015.

En la prueba de Tukey del porcentaje de inhibición producto de la interacción (cuadro 43) se identificó que a una dosis del 2 % el efecto inhibitorio de *Azadirachta indica* produce un punto medio entre el alcohol y el extracto de *Gliricidia sepium* a esta concentración, dando como resultado que se pueda comparar estadísticamente con ambos tratamientos. Pero este extracto al 5,0 % aumenta abruptamente su actividad antifúngica, de tal forma que junto con el extracto de *G. sepium* al 5,0 % produjeron la inhibición total del crecimiento micelial de la colonia de *Alternaria solani*, que superó por un 78% el efecto inhibitorio del alcohol al 5,0 %.

**CUADRO 43**  
**PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL DESARROLLO MICELIAL DE *Alternaria solani* POR EFECTO DE LA INTERACCIÓN ENTRE EL EXTRACTO VEGETAL Y LA DOSIS; COBÁN, ALTA VERAPAZ, 2015**

Tratamiento	Inhibición media (%)	Transformación $\arccoseno\sqrt{\%}$	W(0,05)= 11,64			
Alcohol 2,0 %	3,78	9,86	A			
<i>A. indica</i> (follaje) 2,0%	6,44	14,62	A	B		
<i>G. sepium</i> 2,0 %	15,58	23,23	*	B		
Alcohol 5,0 %	22,11	27,89			C	
<i>A. indica</i> (follaje) 5,0%	100,00	90,00			*	D
<i>G. sepium</i> 5,0 %	100,00	90,00			*	D
*Diferencia significativa						

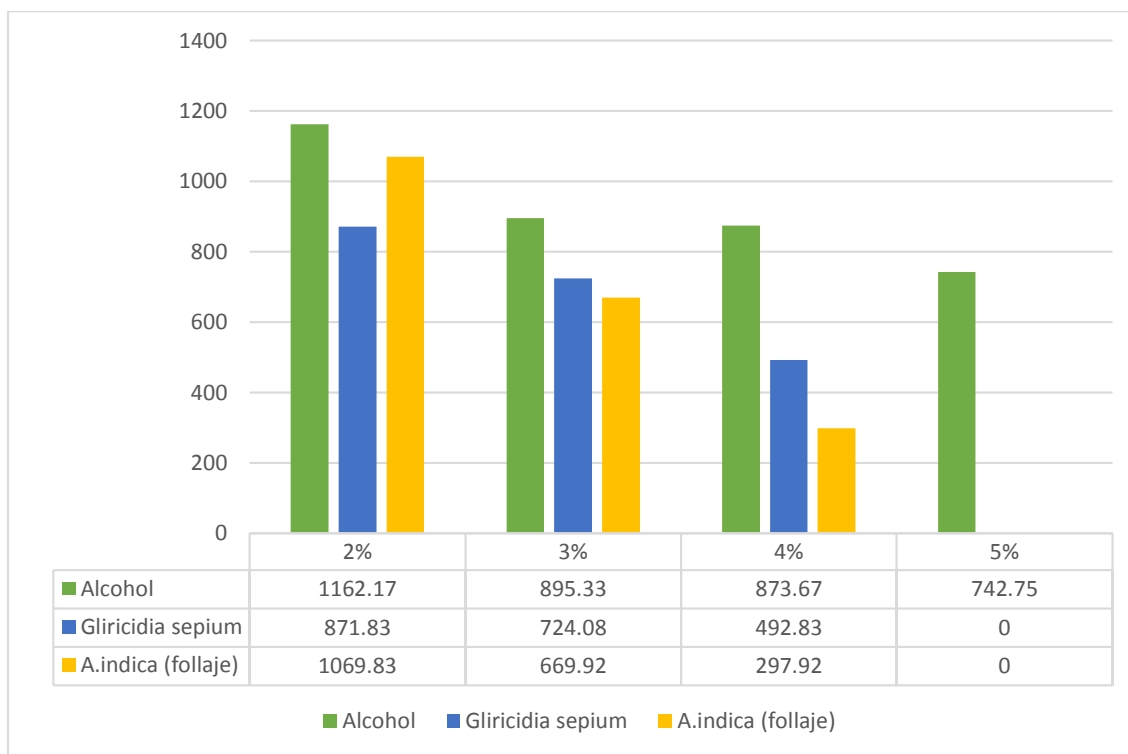
Fuente: Investigación de campo, 2015.

Como resultado final se obtuvo que la dosis mínima inhibitoria de extracto de *Gliricidia sepium* y *Azadirachta indica* (follaje) necesaria para inhibir completamente el crecimiento micelial de *A. solani* fue la concentración del 5,0 %.

Los resultados del área media de las colonias por tratamiento se representan en la gráfica 7; permiten identificar que a una dosis del 2,0 % el extracto más efectivo para reducir el área es el de *Gliricidia sepium*. Conforme aumenta la concentración el decremento en el área es mayor, hasta un punto máximo donde el crecimiento micelial es nulo.

En el caso de extracto *Azadirachta indica* (follaje) como lo muestra la gráfica 7, presenta una disminución abrupta del área en cada dosis, al inicio es semejante al efecto que produce el alcohol y en concentraciones altas semejante al efecto de *Gliricidia sepium*.

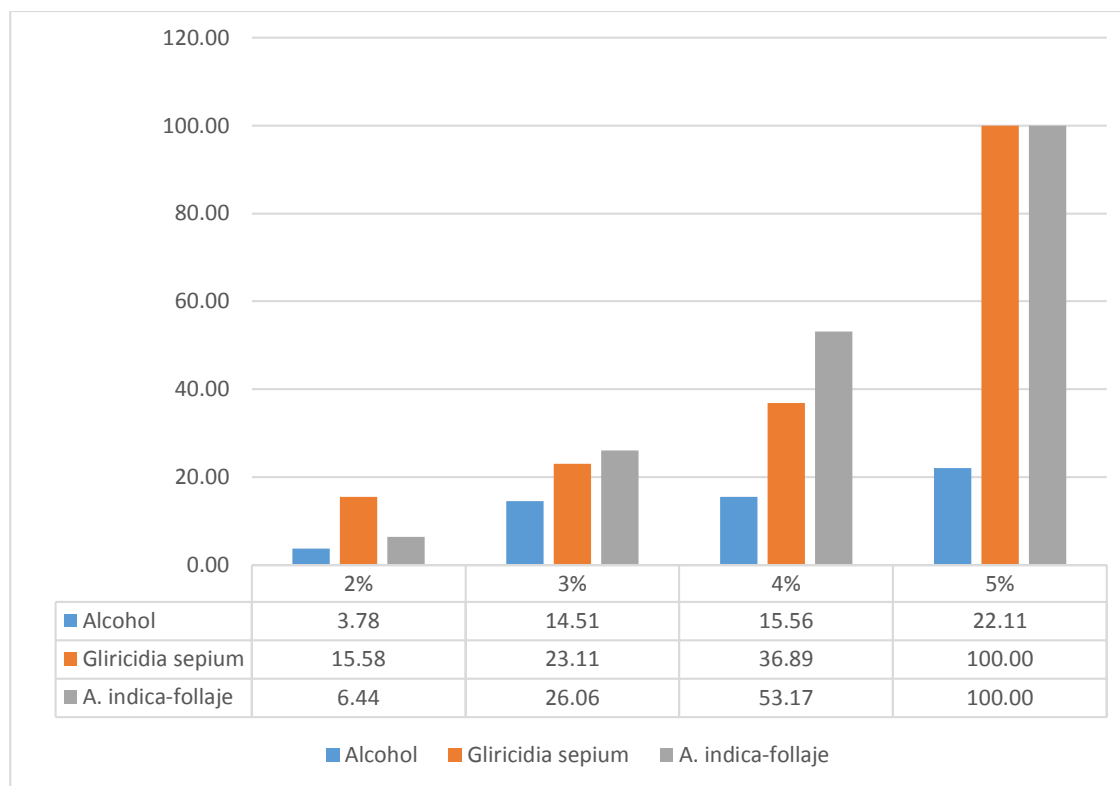
**GRÁFICA 7**  
**ÁREA OCUPADA POR LA COLONIA DE *Alternaria solani* EN PLACAS**  
**AL 2,0 %; 3,0 %; 4,0 % Y 5,0 % DE EXTRACTO VEGETAL**



Fuente: Investigación de campo, 2015.

Los datos de los porcentajes medios de inhibición por cada tratamiento se presentan en la gráfica 8, en la que se observa cómo *Alternaria solani* se inhibe solo un 22 % cuando el alcohol se aplica al 5,0 %, mientras que los extractos de *Azadirachta indica* (follaje) y *Gliricidia sepium* alcanzaron el 100 % de inhibición micelial, que superó el 72% del efecto antifúngico del alcohol.

**GRÁFICA 8**  
**PORCENTAJE DE INHIBICIÓN POR EFECTO DE EXTRACTOS VEGETALES**  
**AL 2,0 %; 3,0 %; 4,0 % Y 5,0 % EL CRECIMIENTO MICELIAL DE**  
***Alternaria solani***



Fuente: Investigación de campo, 2015.

Al ver la anterior gráfica, es claro cómo el efecto inhibitorio de los extractos aumenta proporcionalmente con la dosis, por ejemplo, en el extracto de *Azadirachta indica* (follaje) al 2,0 % de concentración solo inhibe un 6,44 % pero al 3,0 % aumenta un 20,0 %; o bien cómo los dos extractos aumentan drásticamente su efecto inhibitorio al 5,0 % de concentración.

En conclusión se determinó que tanto el extracto de *Gliricidia sepium* como *Azadirachta indica* (follaje) poseen ingredientes activos que actúan como inhibidores del crecimiento micelial de *A. solani*, cuyo efecto llega a un punto máximo al 5 % de concentración en el medio de cultivo.

## Discusión general

Al finalizar las evaluaciones anteriores con *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani*, es importante discutir algunos aspectos como el efecto antimicrobiano del alcohol etílico, la eficacia de algunos extractos como inhibidores del crecimiento micelial y la exclusión de otros por su baja o nula actividad antifúngica en estos dos hongos.

El alcohol etílico es considerado como un antimicrobiano debido a su amplio espectro de acción que destruye o impide el desarrollo de hongos, bacterias y virus. Su efecto inhibitorio varía en función del organismo, dosis, forma de aplicación y tiempo de acción.

El grado de efectividad de un antimicrobiano puede variar de un organismo a otro en relación al grado de susceptibilidad que éste posea. Esto se evidencia con el nivel de tolerancia que presentó cada hongo al solvente; por ejemplo en el caso de *F. oxysporum*, puede tolerar hasta el 2,5 % de alcohol en el medio de cultivo sin que su crecimiento micelial varíe significativamente del testigo; pero en el caso de *A. solani*, este punto se logra a concentraciones iguales o menores al 2,0 %.

Por otra parte, con las dosis de alcohol que se utilizaron en las pruebas discriminatorias se determinó que el efecto inhibitorio del alcohol aumenta proporcionalmente a su concentración. Dado que a altas concentraciones el medio de cultivo se vuelve demasiado hostil para el desarrollo y crecimiento de los hongos hasta un punto intolerable, en el caso de *F. oxysporum* se encuentra entre el 12,5 % y 25,0 %; de alcohol etílico y para *A. solani* entre el 6,25 % y 12,5 % de este solvente.

Ahora bien, cuando el alcohol se aplica en el medio de cultivo de forma diluida se identificó que actúa como un fungistático de tal forma que solo detiene

o impide el desarrollo de los hongos en las placas hasta un punto donde las esporas son incapaces de germinar en el medio, mientras que si se aplica directamente el alcohol a altas concentraciones actúa como un fungicida.

A nivel fisiológico, el alcohol etílico es capaz de afectar directamente la estructura de la membrana y pared celular de los hongos y sus funciones debido a que desnaturaliza proteínas y solubiliza lípidos. Pero cabe recalcar que el único efecto del alcohol a las esporas es inhibitorio, ya que no es capaz de destruirlas o causar la pérdida de viabilidad por muerte celular. Es por esto que en las placas donde el crecimiento micelial fue nulo, las esporas quedaron en latencia exógena por causa del alcohol etílico a una concentración intolerable para el hongo.

En relación a los resultados que se obtuvieron con los 12 extractos vegetales evaluados, la primera prueba que se realizó para cada hongo fue de carácter discriminatorio, ya que se seleccionaron los extractos con sustancias activas antifúngicas que pueden inhibir el crecimiento micelial de estos patógenos efectivamente y se descartaron los extractos vegetales de nula o baja actividad antifúngica.

Los extractos vegetales que se identificaron que no ejercían algún efecto significativo sobre el crecimiento de *F. oxysporum* y *A. solani*, se excluyeron del siguiente ensayo. Los resultados que se obtuvieron en estos tratamientos pueden deberse a la capacidad que tienen estos patógenos de degradar o metabolizar las sustancias activas presentes en estos extractos, baja o nula susceptibilidad a dichos compuestos químicos; o bien por la alteración de las propiedades físico-químicas de los metabolitos vegetales en los extractos como consecuencia de los factores a los que se sometieron las placas como temperatura, luminosidad, pH, etc.

El efecto antifúngico de los extractos vegetales muestra una alta especificidad, ya que aquellos que se diferenciaron significativamente del testigo y de otros extractos de menor actividad son diferentes para cada hongo evaluado. En el caso de *Fusarium oxysporum*, los extractos fueron de *Annona diversifolia*, *Annona squamosa*, *Annona reticulata* y *Plantago major*, mientras que para *Alternaria solani* los extractos fueron *Gliricidia sepium* y *Azadirachta indica*, ambos de follaje.

Caso contrario de lo que se planteó en la hipótesis inicial en la que se supuso que los extractos de *Annonas* deberían ser efectivos para los dos hongos fitopatógenos evaluados, con la premisa de un efecto general de los ingredientes activos de dichos extractos sin tomar en cuenta la especificidad en su modo de acción y la susceptibilidad del patógeno a estos.

Según lo indicado, la hipótesis inicial se cumple solo en *Fusarium oxysporum*; y se rechaza el supuesto de que los extractos de *Annonas* poseen efectos antifúngicos generales que inhiben el crecimiento micelial independientemente del hongo sobre el que actúan.

Por lo cual, la efectividad de estos extractos como inhibidores del crecimiento micelial se relaciona íntimamente con su composición química, donde un metabolito o el conjunto de metabolitos secundarios presentes en el extracto en una particular combinación y proporción afecta aspectos importantes del desarrollo del hongo a través de sus mecanismos de acción a nivel celular.

Actualmente se ha descubierto la actividad antifúngica de ciertos metabolitos secundarios que pueden presentar un mecanismo de acción variable entre los diferentes microorganismos; por ejemplo los terpenos poseen la habilidad de dañar las biomembranas a través de la inhibición de la síntesis del ergosterol o por fijación a estas moléculas modificando la permeabilidad de la membrana, los fenoles son fuertes inhibidores de los procesos enzimáticos por

oxidación de compuestos, algunos flavonoides son de naturaleza lipófila y otros como los taninos inhiben la síntesis de proteínas en las células al formar complejos con los aminoácidos, las saponinas forman complejos con los esteroides de la membrana y ocasionan su desintegración y los alcaloides se intercalan con el ADN, lectinas y polipéptidos, a demás forman canales iónicos en la membrana o inhibición competitiva por adhesión de proteínas.<sup>103</sup>

En el caso de *F. oxysporum* los tres extractos de *Annonas* que se evaluaron resultaron promisorios para inhibir el desarrollo de este hongo y se determinó que la concentración mínima a la que hay que aplicar este extracto en el medio para inhibir totalmente su desarrollo micelial es al 8,0 %. En cuanto a su composición química, se ha determinado que los principales metabolitos que poseen las semillas son alcaloides, terpenos y acetogeninas<sup>104</sup>. Las acetogeninas son compuestos únicos naturales que se encuentran en la familia *Annonaceae* y actualmente resaltan por su actividad bioplággida ya que pueden inhibir el complejo I del sistema mitocondrial. Las acetogeninas que se han identificado de las *annonas* principalmente son la escuamocina y la anonacina, después están las del tipo asimicina.

El extracto de *Plantago major*, de igual forma fue efectivo para inhibir el desarrollo micelial de *F. oxysporum* con una dosis mínima inhibitoria del 8,0 %. En cuanto a la composición química de estas plantas destaca la presencia de flavonoides, terpenos, taninos y cumarinas. El ingrediente que se ha identificado

---

<sup>103</sup> Roberto Montes Belmont. *Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos*.  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-31802009000100010](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802009000100010).  
(19/7/2015).

<sup>104</sup> Maria Adelina Schelie Guzmán, Alma rosa González Esquinca, Lorena Mercedes Luna Cazáres. *Acetogeninas de Annonaceas: efecto antiproliferativo en líneas celulares neoplásicas*.  
<http://www.redalyc.org/pdf/856/85611265004.pdf>. (19/07/2015).



por su actividad antimicrobiana es la aucubina, que es un glucósido iridoide que pertenece al grupo de los terpenos.<sup>105</sup>

Por otra parte, los extractos que resultaron promisorios para *Alternaria solani* fueron los de *Gliricidia sepium* y *Azadirachta indica*, ambos obtenidos del follaje de la planta cuya dosis mínima inhibitoria es al 5,0 % ya que en este punto se logró determinar que el desarrollo de la colonia fue nulo en los tratamientos establecidos.

*Gliricidia sepium* es una planta que se destaca por sus propiedades alelopáticas que le confieren su potencial antifúngico. Actualmente se desconoce exactamente el compuesto químico presente en la planta a la que se le puede atribuir su actividad antifúngica, pero en su composición química destaca la presencia de alcaloides, fenoles, flavonoides y saponinas.<sup>106</sup>

En cuanto a las propiedades antifúngicas del extracto de *A. indica* derivado del follaje de la planta se puede atribuir a los terpenos y flavonoides presentes en la parte aérea de la planta. El terpeno que se conoce como el principal componente antimicrobiano es la azadiractina, en cuanto a los flavonoides se señala la quercitina que pertenece al grupo de los limonoides presentes solo en especies que se encuentran en la familia *Rutaceae* y *Meliaceae* a la que pertenece el neem.<sup>107</sup>

---

<sup>105</sup> Bárbara Blanco, Adriana Saborío, Giovanni Garro. *Descripción anatomica, propiedades medicinales y uso potencia de Plantago major (llantén mayor)*. [http://tecdigital.tec.ac.cr/servicios/ojs/index.php/tec\\_marcha/article/view/107/106](http://tecdigital.tec.ac.cr/servicios/ojs/index.php/tec_marcha/article/view/107/106). (19/07/2015).

<sup>106</sup> Lilia Urdaneta, María Sanabria, Dorian Rodríguez, María Pérez de Camacaro. *Grupos de metabolitos secundarios del extracto etanólico de Gliricidia sepium y su potencial Antifúngico sobre Colletotrichum acutatum*. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33928571008>. (18/07/2015).

<sup>107</sup> Daniel Iván Ospina Salazar. *Actividad antifúngica del extracto crudo de Azadirachta indica de susepención de células sobre hongos dermatofitos causantes de enfermedades patógenas al hombre, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias*. <http://www.bdigital.unal.edu.co/8083/1/14624562.2012.pdf>. (19/07/2015).



## CONCLUSIONES

1. La hipótesis inicial se descarta parcialmente debido a que los resultados de la investigación demuestran que los extractos de semilla de *Annona diversifolia*, *Annona reticulata* y *Annona squamosa* son efectivos inhibidores del crecimiento micelial *in vitro* de *Fusarium oxysporum* pero no actúan sobre el desarrollo de *Alternaria solani*, pues su modo de acción es específico para cada hongo y no general como se supuso en la hipótesis planteada.
2. Para extraer los ingredientes activos de los materiales vegetales seleccionados bajo las condiciones de la presente investigación se utilizó la tintura con alcohol etílico al 95 % (grado laboratorio) como disolvente en una relación 1:10 (P/V), ya que extrae la mayor cantidad de compuestos orgánicos y puede conservarse sin perder sus propiedades por mucho tiempo.
3. El alcohol etílico es un antimicrobiano cuya actividad antifúngica varía en función del organismo, dosis usada, forma de aplicación y tiempo de acción. El efecto inhibitorio del alcohol etílico aumenta proporcionalmente con la dosis hasta que el crecimiento micelial del hongo es nulo y las esporas se inducen a una latencia exógena; para *Fusarium oxysporum* este punto crítico está entre el 12,5 % y 25,0 % de alcohol y para *Alternaria solani* entre 6,25 % y 12,5 % de dicho solvente.
4. *Fusarium oxysporum* presenta mayor tolerancia al alcohol etílico que *Alternaria solani*, por lo cual la dosis máxima de alcohol donde el efecto inhibitorio del solvente no es significativo y el área de colonia es similar al testigo se definió al 2,5 % para *F. oxysporum* y al 2,0 % para *A. solani*.

5. Se determinó que los extractos de follaje de *Gliricidia sepium* y *Azadirachta indica* poseen metabolitos secundarios activos que inhiben significativamente el desarrollo micelial de *Alternaria solani* y en el caso de *Fusarium oxysporum* fueron los extractos de semillas de las *Annonas* evaluadas y el de follaje de *Plantago major*, en contradicción a lo planteado en la hipótesis de esta investigación.
6. Para *Fusarium oxysporum* se identificó que la dosis mínima de extracto de *Annonas* y *Plantago major* que inhibe totalmente el desarrollo micelial en las placas es al 8,0 % y para *Alternaria solani* al 5,0 % de extracto de *Gliricidia sepium* y *Azadirachta indica* (follaje).
7. En general, la efectividad de los extractos vegetales aumenta proporcionalmente con la dosis y el tiempo que estos actúan; asimismo los resultados pueden variar de un organismo a otro por la alta especificidad que poseen los extractos vegetales.
8. Los extractos vegetales que en esta investigación no presentaron efecto inhibitorio significativo en el crecimiento de *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani*, se debe a que estos patógenos no son susceptibles a los metabolitos secundarios activos presentes en los extractos o bien a una alteración de la propiedades fisicoquímicas de los compuestos por factores ambientales como temperatura, luminosidad, pH, etc.
9. Las propiedades antifúngicas de los extractos identificados como promisorios para el control de *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani* pueden derivarse de la acción de un ingrediente activo en específico o por el efecto sinérgico de la mezcla de metabolitos presentes en el extracto a una concentración y proporción determinada.

## RECOMENDACIONES

1. Realizar pruebas en campo con los extractos que resultaron promisorios para el control de *Alternaria solani* y *Fusarium oxysporum*, al evaluar diferentes concentraciones con referencia la dosis mínima inhibitoria determinada en esta investigación.
2. Llevar a cabo pruebas *in vitro* con los extractos que se determinaron con actividad antifúngica contra *Alternaria solani* y *Fusarium oxysporum*, para definir sus efectos inhibitorios en la esporulación de estos patógenos y si poseen propiedades fungistáticas o fungicidas.
3. Realizar un ensayo *in vitro* con los extractos vegetales que resultaron efectivos inhibidores del crecimiento micelial de los patógenos evaluados para identificar los grupos químicos responsables de su actividad antifúngica a través del tamizaje fitoquímico y fraccionamientos de estos extractos.
4. Evaluar otros métodos de extracción que minimicen el efecto del solvente y obtener los extractos con los ingredientes activos más concentrados.



## BIBLIOGRAFÍA

- Acetogeninas en Annonaceae*. <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/351/1/58322F634ms.pdf> (4 de agosto de 2 014).
- Agrios, G.N. *Fitopatología*. México: Editorial Limusa, 1 998.
- Castañeda, Pedro Reyes. *Diseño de experimentos aplicados*. México: Editorial Trillas, 1 984.
- Estudio preliminar de las propiedades físicas de la especie Azadirachta indica (neem), procedente del estado Falcón (Venezuela)*. <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/24315/2/articulo3.pdf> (6 de agosto de 2 014).
- Equisetum giganteum: Ficha de antecedentes de especie*. [http://www.mma.gob.cl/clasificacionespecies/fichas9proceso/FICHAS\\_INICIO\\_9o\\_PROCESO\\_PDF/Equisetum\\_giganteum.pdf](http://www.mma.gob.cl/clasificacionespecies/fichas9proceso/FICHAS_INICIO_9o_PROCESO_PDF/Equisetum_giganteum.pdf) (9 de agosto de 2 014).
- Extractos vegetales antifúngicos*. [http://www.ride.org.mx/docs/publicaciones/09/biotecnologia/Rosalba\\_Ortega\\_Jimenez-Veronica\\_G\\_Dominguez\\_Martinez-Norma\\_A\\_Coria\\_Gil.pdf](http://www.ride.org.mx/docs/publicaciones/09/biotecnologia/Rosalba_Ortega_Jimenez-Veronica_G_Dominguez_Martinez-Norma_A_Coria_Gil.pdf) (25 de junio de 2 014).
- Fichas populares sobre plantas medicinales*. Guatemala: CEMAT, 1 990.
- Castaño Zapata, Jairo y Luis Río Mendoza. *Guía para el diagnóstico y control de enfermedades en cultivos de importancia económica*. Honduras: Zamorano Academic Press, 1 994.
- Galan Cortez, William E. y Jose B Ramirez Molendez. *Evaluación de los extractos de hojas de Azadirachta indica (Nim) para el control de Meloidogyne sp. de coffea arabica*. Tesis de la facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador. <http://ri.ues.edu.sv/495/1/10136851.pdf> (6 de agosto de 2 014).
- Jones, Samuel. *Sistemática Vegetal*. México: McGraw-Hill, 1 988.
- Latorre Guzmán, Bernardo. *Enfermedades de las plantas cultivadas*. México: Editorial Alfaomega, 1 999.

*Modo de acción de la annonacina.* <http://es.wikipedia.org/wiki/Annonacina> (3 de agosto de 2 014).

Montes Belmont, Roberto. *Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos.* [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-31802009000100010](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802009000100010) (20 de agosto de 2 014).

Morton, F. *Atlas of medicinal plants off middle América, Bahamas to Yucatán.* Illinois, United States of America: Charles Thomas Publisher, 1 981.

*Origen y distribución de Annona reticulata.* [http://es.wikipedia.org/wiki/Annona\\_reticulata](http://es.wikipedia.org/wiki/Annona_reticulata) (29 de julio de 2 014).

*Origen y distribución de Azadirachta indica.* [http://es.wikipedia.org/wiki/Azadirachta\\_indica](http://es.wikipedia.org/wiki/Azadirachta_indica) (4 de agosto de 2 014).

*Origen y distribución de Chenopodium ambrosioides.* [http://es.wikipedia.org/wiki/Dysphania\\_ambrosioides](http://es.wikipedia.org/wiki/Dysphania_ambrosioides) (4 de agosto de 2 014).

*Origen y distribución de Plantago major.* [http://es.wikipedia.org/wiki/Plantago\\_major](http://es.wikipedia.org/wiki/Plantago_major) (7 de agosto de 2 014).

*Origen y distribución de Sida rhombifolia.* [http://es.wikipedia.org/wiki/Sida\\_rhombifolia](http://es.wikipedia.org/wiki/Sida_rhombifolia) (8 de agosto de 2 014).

Otárala Toscano, Augusto. *Resultados de 10 años de investigación silvicultura del proyecto madelaña en Nicaragua.* CATIE, 1 997. [https://www.google.com.gt/search?hl=es&tbo=p&tbm=bks&q=isbn:9977572798&gws\\_rd=ssl](https://www.google.com.gt/search?hl=es&tbo=p&tbm=bks&q=isbn:9977572798&gws_rd=ssl) (6 de agosto del 2 014).

Peña, David Amirel y José Amirel Pérez. *Metodologías utilizadas en la investigación de plantas antitumorales.* [http://cientifica.edu.pe/\\_data/archivos/Investigaciones/Metodologias\\_utilizadas\\_en\\_la\\_investigacion\\_de\\_Plantas\\_Antitumorales\\_Descripcion\\_y\\_Comentarios.pdf](http://cientifica.edu.pe/_data/archivos/Investigaciones/Metodologias_utilizadas_en_la_investigacion_de_Plantas_Antitumorales_Descripcion_y_Comentarios.pdf) (6 de agosto de 2 014).

Rivera Coto, German. *Conceptos introductorios a la fitopatología.* San José, Costa Rica: EUNED, 2 007.

Sánchez Aguilar, Hotón. *Caracterización de sitio para plantaciones con neem (Azadirachta indica) en la ciudad Ixteoex, Oxaca.* Tesis de Ingeniero Forestal de la Universidad Autónoma de Chapingo. [http://www.chapingo.mx/dicifo/tesislic/2011/sanchez\\_aguilar\\_hoton\\_2011.pdf](http://www.chapingo.mx/dicifo/tesislic/2011/sanchez_aguilar_hoton_2011.pdf) (6 de agosto de 2 014).



Universidad de San Carlos de Guatemala –USAC-. *Manual de laboratorio de microbiología agrícola de la carrera de Agronomía*. Centro Universitario del Norte. Cobán, Alta Verapaz, Guatemala: Carrera de Agronomía, 2 014.



V.ºB.º

---

Adán García Véliz

Licenciado en Pedagogía e Investigación Educativa  
Bibliotecario



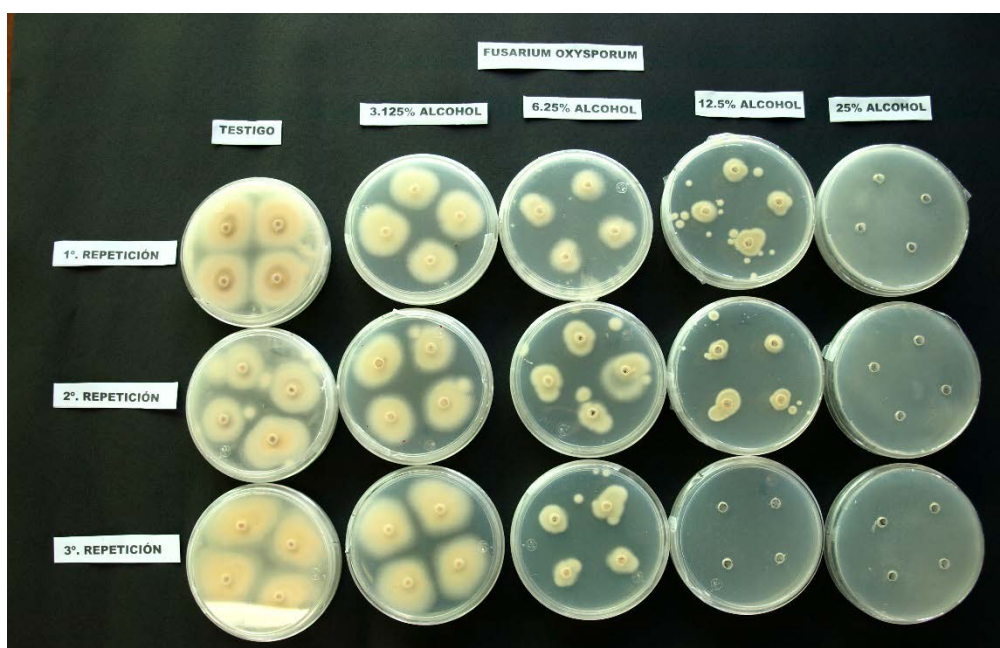
## **ANEXOS**

**ANEXO 1**  
**PRUEBA DE TOLERANCIA ALCOHOL ETÍLICO DE *Fusarium oxysporum***  
**EN PLACAS AL 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % Y 3,125 % DE CONCENTRACIÓN**

Área de la colonia en la placa (mm <sup>2</sup> )				
Tratamiento	R1	R2	R3	$\bar{x}$
Testigo	707,25	657,00	766,25	710,17
Alcohol 3,125 %	447,00	618,00	482,75	515,92
Alcohol 6,25 %	179,00	133,25	270,75	194,33
Alcohol 12,5 %	134,25	121,00	14,25	89,83
Alcohol 25,0 %	0,00	0,00	0,00	0,00
Porcentaje de inhibición micelial				
Tratamiento	R1	R2	R3	$\bar{x}$
Testigo	0,00	0,00	0,00	0,00
Alcohol 3,125 %	20,62	6,67	17,51	14,93
Alcohol 6,25 %	49,77	56,66	38,22	48,22
Alcohol 12,5 %	56,50	58,70	85,83	67,01
Alcohol 25,0 %	100,00	100,00	100,00	100,00

Fuente: Investigación de campo, 2015.

**IMAGEN 1**  
**PRUEBA DE TOLERANCIA ALCOHOL ETÍLICO DE *Fusarium oxysporum***  
**EN PLACAS AL 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % Y 3,125 % DE CONCENTRACIÓN**



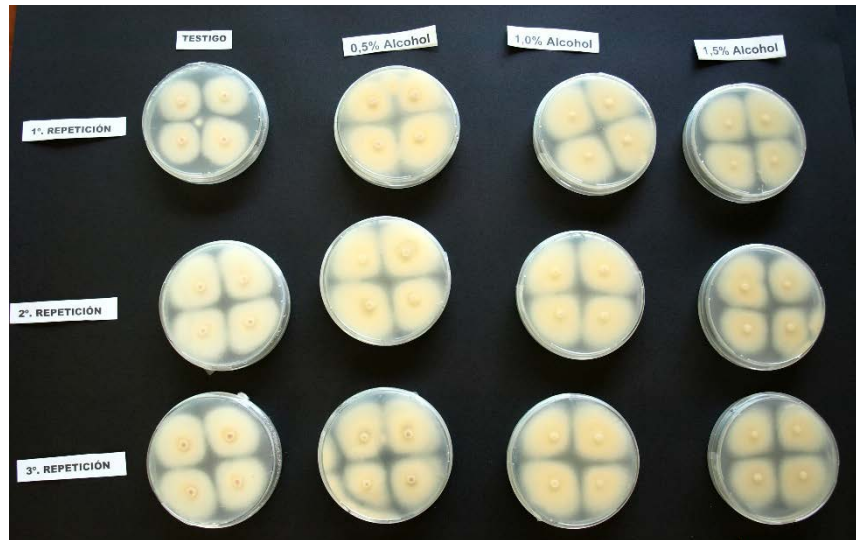
Tomado por: Eunice Lissette Pax Cucul, 2015.

**ANEXO 2**  
**PRUEBA DE TOLERANCIA ALCOHOL ETÍLICO DE *Fusarium oxysporum***  
**EN PLACAS 0,5 %; 1,0 %; 1,5 %; 2,0 %; 2,5 %; 3,0 % Y 3,5 %; DE**  
**CONCENTRACIÓN**

<b>Área de la colonia en la placa (mm<sup>2</sup>)</b>				
<b>Tratamiento</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>
Testigo	791,50	930,75	930,00	884,08
0,5 % Alcohol	943,25	1010,00	803,75	919,00
1,0 % Alcohol	967,75	946,00	854,25	922,67
1,5 % Alcohol	867,00	699,50	829,50	798,67
2,0 % Alcohol	946,25	772,50	698,75	805,83
2,5 % Alcohol	652,50	830,25	820,25	767,67
3,0 % Alcohol	448,75	560,75	664,75	558,08
3,5 % Alcohol	400,25	687,75	462,25	516,75
<b>Porcentaje de inhibición micelial</b>				
<b>Tratamiento</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>
Testigo	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5 % Alcohol	0,00	0,00	4,58	1,53
1,0 % Alcohol	0,00	0,00	1,63	0,54
1,5 % Alcohol	0,90	10,99	3,07	4,99
2,0 % Alcohol	0,00	6,46	11,03	5,83
2,5 % Alcohol	14,03	3,02	3,61	6,89
3,0 % Alcohol	17,50	20,30	13,23	17,01
3,5 % Alcohol	32,67	11,74	27,64	24,01

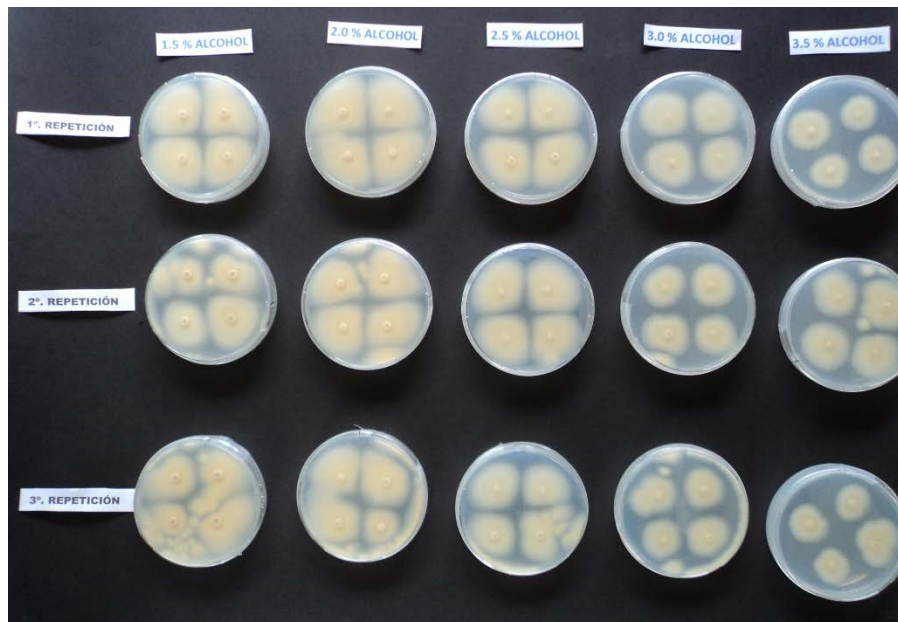
Fuente: Investigación de campo, 2015.

**IMAGEN 2**  
**PRUEBA DE TOLERANCIA ALCOHOL ETÍLICO DE *Fusarium oxysporum***  
**EN PLACAS 0,5 %; 1,0 %; 1,5 %; 2,0 %; 2,5 %; 3,0 % Y 3,5 %; DE**  
**CONCENTRACIÓN**



Tomado por: Eunice Lisette Pax Cucul, 2015.

**IMAGEN 3**  
**PRUEBA DE TOLERANCIA ALCOHOL ETÍLICO DE *Fusarium oxysporum***  
**EN PLACAS 0,5 %; 1,0 %; 1,5 %; 2,0 %; 2,5 %; 3,0 % Y 3,5 %; DE**  
**CONCENTRACIÓN**



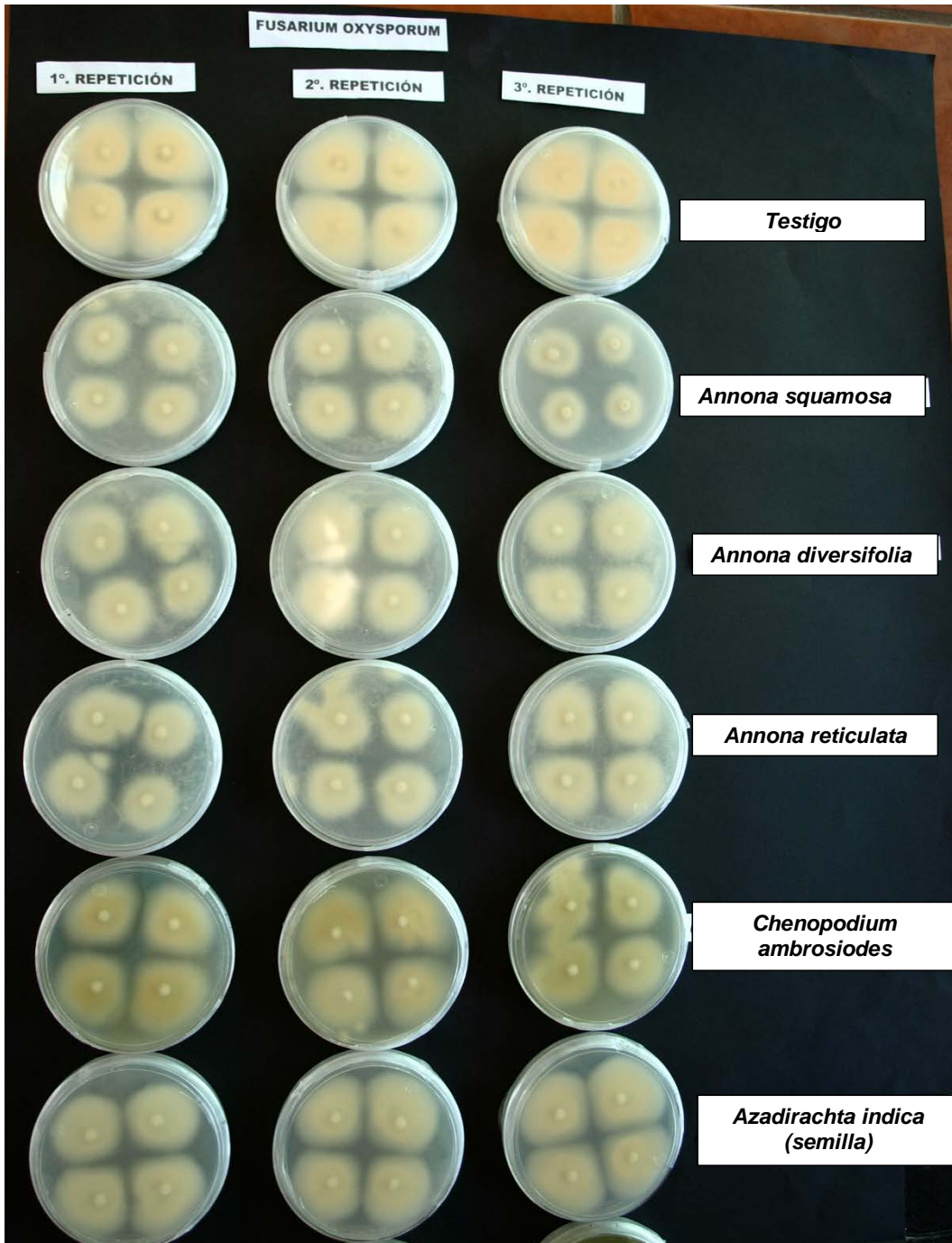
Tomado por: Eunice Lisette Pax Cucul, 2015.

**ANEXO 3**  
**PRUEBA DE EFECTO ANTIFÚNGICO DE EXTRACTOS VEGETALES**  
**SOBRE *Fusarium oxysporum* al 2,5 % DE CONCENTRACIÓN**

<b>Área de la colonia en la placa (mm<sup>2</sup>)</b>				
<b>Tratamiento</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>
<b>Testigo</b>	897,75	864,25	927,00	896,33
<b>Annona diversifolia</b>	505,50	565,25	380,25	483,67
<b>Annona squamosa</b>	557,00	630,75	545,75	577,83
<b>Annona reticulata</b>	526,75	557,50	615,50	566,58
<b>Plantago mayor</b>	668,75	626,50	546,25	613,83
<b>Chenopodium ambrosioides</b>	766,50	701,00	655,00	707,50
<b>Azadirachta indica- semilla</b>	786,50	853,50	838,00	826,00
<b>Azadirachta indica- follaje</b>	794,25	828,50	854,50	825,75
<b>Equisetum giganteum</b>	635,00	727,50	675,50	679,33
<b>Ricinus comunis</b>	824,75	791,00	822,75	812,83
<b>Gliricidia sepium</b>	781,25	796,25	758,00	778,50
<b>Lippia alba</b>	755,50	662,00	611,75	676,42
<b>Sida rhombifolia</b>	647,00	772,25	750,25	723,17
<b>Porcentaje de inhibición micelial</b>				
<b>Tratamiento</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>
<b>Testigo</b>	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Annona diversifolia</b>	14,54	8,91	10,47	11,31
<b>Annona squamosa</b>	14,06	11,24	8,91	11,40
<b>Annona reticulata</b>	11,68	14,18	11,83	12,56
<b>Plantago mayor</b>	14,89	13,81	16,43	15,04
<b>Chenopodium ambrosioides</b>	22,79	15,50	17,00	18,43
<b>Azadirachta indica- semilla</b>	15,89	19,91	22,38	19,39
<b>Azadirachta indica- follaje</b>	23,42	18,34	21,30	21,02
<b>Equisetum giganteum</b>	16,64	22,06	24,70	21,13
<b>Ricinus comunis</b>	21,64	23,89	27,90	24,48
<b>Gliricidia sepium</b>	27,40	23,66	27,97	26,34
<b>Lippia alba</b>	28,86	27,40	24,43	26,90
<b>Sida rhombifolia</b>	29,93	26,99	36,21	31,04

Fuente: Investigación de campo, 2015.

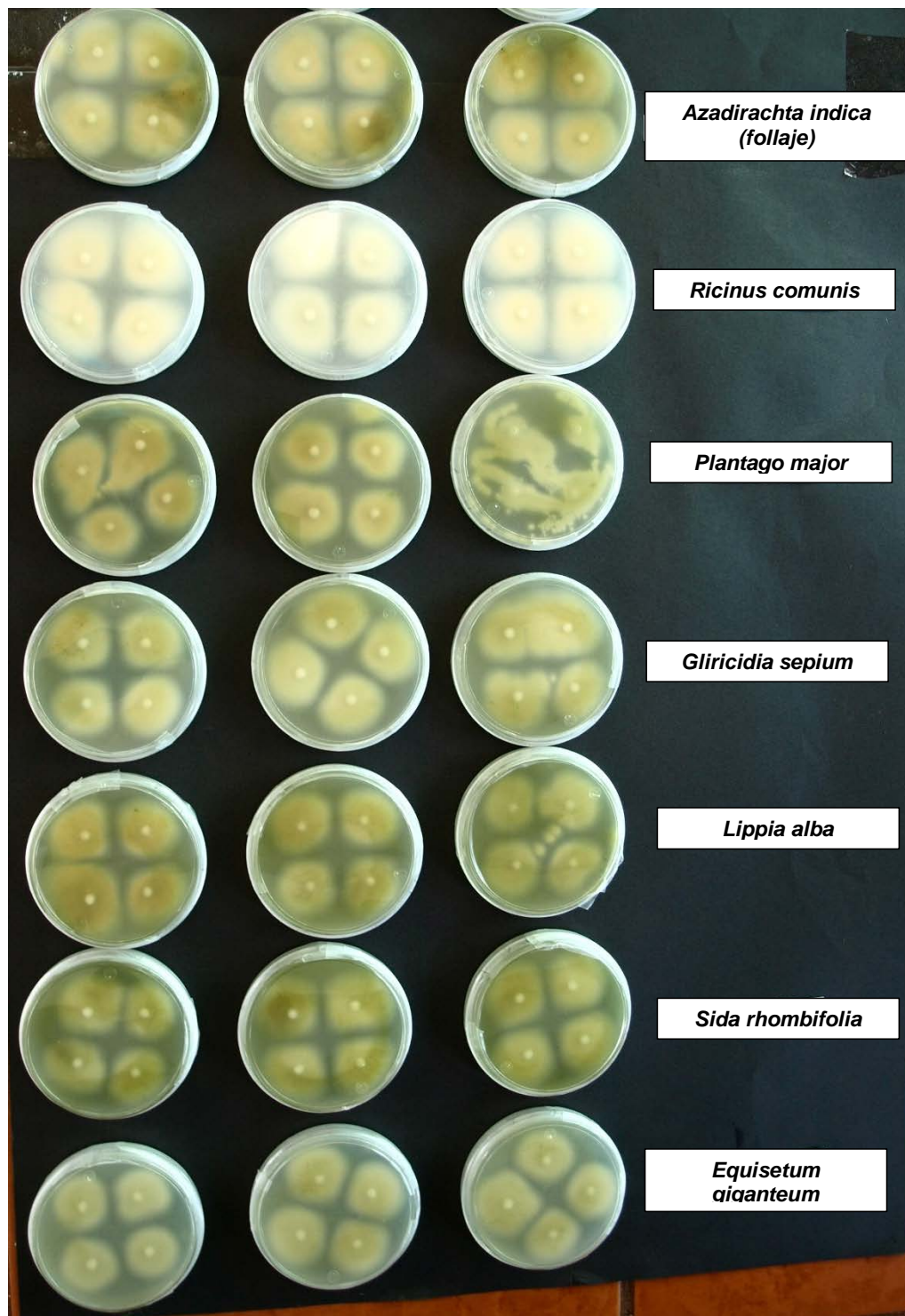
**IMAGEN 4**  
**PRUEBA DE TOLERANCIA ALCOHOL ETÍLICO DE *Fusarium oxysporum***  
**EN PLACAS 0,5 %; 1,0 %; 1,5 %; 2,0 %; 2,5 %; 3,0 % Y 3,5 %; DE**  
**CONCENTRACIÓN**



Tomado por: Eunice Lissette Pax Cucul, 2015.



**IMAGEN 5**  
**PRUEBA DE TOLERANCIA ALCOHOL ETÍLICO DE *Fusarium oxysporum***  
**EN PLACAS 0,5 %; 1,0 %; 1,5 %; 2,0 %; 2,5 %; 3,0 % Y 3,5 %; DE**  
**CONCENTRACIÓN**



Tomado por: Eunice Lissette Pax Cucul, 2015.

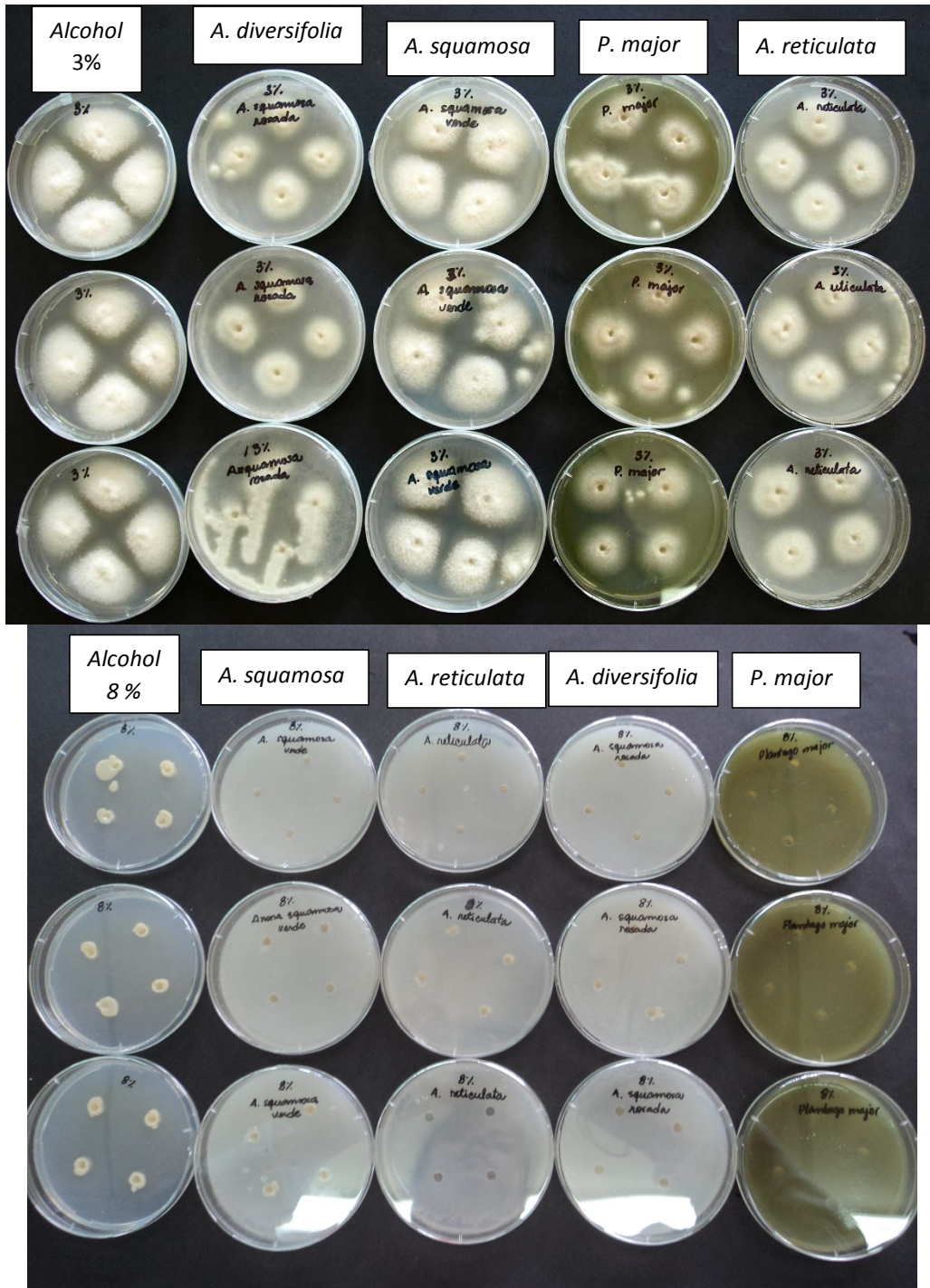
**ANEXO 4**  
**PRUEBA DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE LOS**  
**EXTRACTOS VEGETALES EFECTO SOBRE *Fusarium oxysporum***

Área de la colonia en la placa (mm <sup>2</sup> )				
Extracto	Dosis	R1	R2	R3
Alcohol	2 %	958,75	962,75	841,75
	3 %	832,50	920,00	893,75
	4 %	687,75	855,75	870,75
	5 %	554,25	466,25	342,75
	6 %	239,50	433,75	270,75
	7 %	234,75	210,25	166,50
	8 %	68,50	68,5	100,50
Annona diversifolia	2 %	593,50	329,25	332,50
	3 %	424,75	446,25	419,50
	4 %	213,50	142,75	207,25
	5 %	141,50	143,00	127,50
	6 %	50,75	23,00	51,00
	7 %	46,50	130,00	50,75
	8 %	0,00	0,00	13,00
Annona reticulata	2 %	695,50	887,50	691,25
	3 %	566,00	553,75	597,75
	4 %	284,25	235,25	332,25
	5 %	104,00	129,75	114,50
	6 %	40,75	40,75	59,25
	7 %	55,75	69,00	66,50
	8 %	0,00	0,00	0,00
Annona squamosa	2 %	781,25	909,25	876,25
	3 %	939,50	910,00	810,75
	4 %	509,75	625,00	417,00
	5 %	459,25	424,50	313,75
	6 %	343,00	171,50	153,50
	7 %	50,50	62,50	80,25
	8 %	0,00	0,00	0,00
Plantago major	2 %	654,00	678,50	348,25
	3 %	502,50	489,25	510,00
	4 %	327,25	418,00	259,75
	5 %	109,00	63,50	154,00
	6 %	83,50	90,25	58,75
	7 %	24,25	38,50	41,25
	8 %	0,00	0,00	23,00

<b>Porcentaje de inhibición micelial</b>				
<b>Extracto</b>	<b>Dosis</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>
Alcohol	2 %	0,00	0,00	4,36
	3 %	4,89	0,01	1,45
	4 %	13,55	3,57	2,72
	5 %	22,39	28,82	38,97
	6 %	48,98	31,34	45,76
	7 %	49,49	52,20	57,46
	8 %	72,72	72,72	66,95
Annona diversifolia	2 %	19,69	40,18	39,89
	3 %	32,06	30,36	32,48
	4 %	51,83	60,61	52,54
	5 %	60,79	60,58	62,78
	6 %	76,52	84,19	76,46
	7 %	77,52	62,41	76,52
	8 %	100,00	100,00	88,11
Annona reticulata	2 %	13,06	1,79	13,33
	3 %	21,57	22,43	19,40
	4 %	44,42	49,44	39,91
	5 %	66,38	62,45	64,73
	6 %	78,96	78,96	74,63
	7 %	75,39	72,62	73,12
	8 %	100,00	100,00	100,00
Annona squamosa	2 %	7,86	0,60	2,42
	3 %	0,00	0,56	6,14
	4 %	25,57	17,59	32,68
	5 %	29,36	32,08	41,61
	6 %	38,95	56,83	59,16
	7 %	76,57	73,94	70,47
	8 %	100,00	100,00	100,00
Plantago major	2 %	15,70	14,13	38,48
	3 %	26,10	27,08	25,55
	4 %	40,37	32,60	46,87
	5 %	65,58	73,73	59,09
	6 %	69,88	68,68	74,73
	7 %	83,77	79,55	78,83
	8 %	100,00	100,00	84,19

Fuente: Investigación de campo, 2015.

**IMAGEN 6**  
**PRUEBA DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE LOS**  
**EXTRACTOS VEGETALES EFECTO SOBRE *Fusarium oxysporum***



Tomado por: Eunice Lisette Pax Cucul, 2015.

**ANEXO 5**  
**PRUEBA DE TOLERANCIA ALCOHOL ETÍLICO DE *Alternaria solani* EN PLACAS AL 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % Y 3,125 % DE CONCENTRACIÓN**

Área de la colonia en la placa (mm <sup>2</sup> )				
Tratamiento	R1	R2	R3	$\bar{x}$
Testigo	950,50	1 086,00	891,25	975.92
Alcohol 3,125 %	671,50	667,00	565,50	634.67
Alcohol 6,25 %	42,50	5,25	126,75	58.17
Alcohol 12,5 %	0,00	0,00	0,00	0,00
Alcohol 25,0 %	0,00	0,00	0,00	0,00
Porcentaje de inhibición micelial				
Tratamiento	R1	R2	R3	$\bar{x}$
Testigo	0,00	0,00	0,00	0,00
Alcohol 3,125 %	16,98	17,26	23,81	19,35
Alcohol 6,25 %	79,11	92,66	63,93	78,57
Alcohol 12,5 %	100,00	100,00	100,00	100,00
Alcohol 25,0 %	100,00	100,00	100,00	100,00

Fuente: Investigación de campo, 2015.

**IMAGEN 7**  
**PRUEBA DE TOLERANCIA ALCOHOL ETÍLICO DE *Alternaria solani* EN PLACAS AL 25,0 %; 12,5 %; 6,25 % Y 3,125 % DE CONCENTRACIÓN**



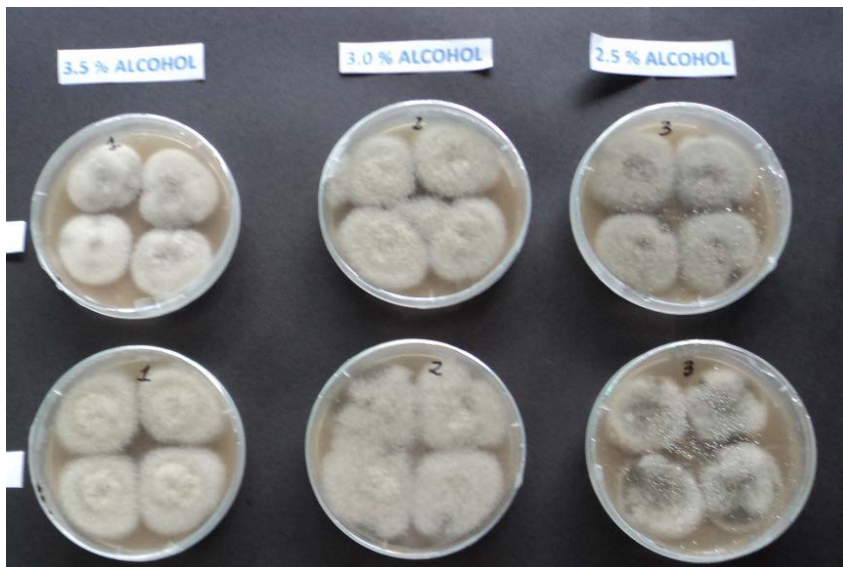
Tomado por: Eunice Lissette Pax Cucul, 2015.

**ANEXO 6**  
**PRUEBA DE TOLERANCIA ALCOHOL ETÍLICO DE *Alternaria solani* EN**  
**PLACAS 0,5 %; 1,0 %; 1,5 %; 2,0 %; 2,5 %; 3,0 % Y 3,5 %; DE**  
**CONCENTRACIÓN**

<b>Área de la colonia en la placa (mm<sup>2</sup>)</b>				
<b>Tratamiento</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>
Testigo	1 124.75	1 102.75	1 206.00	1 144.50
0,5 % Alcohol	1 137.50	1 125.50	1 091.75	1 118.25
1,0 % Alcohol	1 265.00	997.33	1 107.50	1 123.28
1,5 % Alcohol	1 106.00	1 149.33	957.00	1 070.78
2,0 % Alcohol	1 060.00	1 025.25	1 071.00	1 052.08
2,5 % Alcohol	821.75	952.25	776.75	850.25
3,0 % Alcohol	775.25	839.75	959.75	858.25
3,5 % Alcohol	870.50	790.75	936.25	865.83
<b>Porcentaje de inhibición micelial</b>				
<b>Tratamiento</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>
Testigo	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5 % Alcohol	0,29	0,82	2,31	1,14
1,0 % Alcohol	0,00	6,63	1,61	2,75
1,0 % Alcohol	1,68	0,00	8,54	3,41
2,0 % Alcohol	3,74	5,34	3,25	4,11
2,5 % Alcohol	15,25	8,77	17,60	13,87
3,0 % Alcohol	17,68	14,33	8,41	13,47
3,5 % Alcohol	12,77	16,86	9,54	13,06

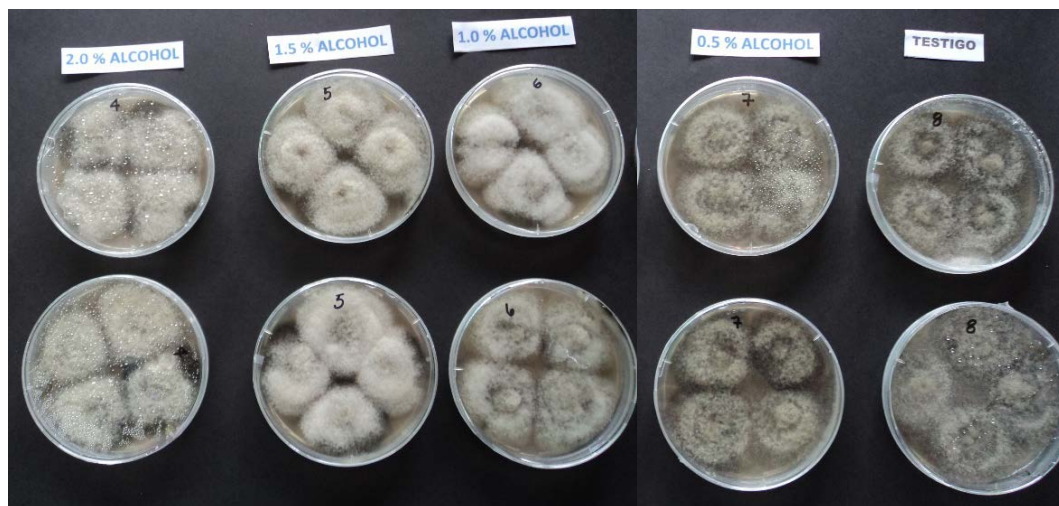
Fuente: Investigación de campo, 2015

**IMAGEN 8**  
**PRUEBA DE TOLERANCIA ALCOHOL ETÍLICO DE *Alternaria solani* EN**  
**PLACAS 0,5 %; 1,0 %; 1,5 %; 2,0 %; 2,5 %; 3,0 % Y 3,5 %; DE**  
**CONCENTRACIÓN**



Tomado por: Eunice Lissette Pax Cucul, 2015.

**IMAGEN 9**  
**PRUEBA DE TOLERANCIA ALCOHOL ETÍLICO DE *Alternaria solani* EN**  
**PLACAS 0,5 %; 1,0 %; 1,5 %; 2,0 %; 2,5 %; 3,0 % Y 3,5 %; DE**  
**CONCENTRACIÓN**



Tomado por: Eunice Lissette Pax Cucul, 2015.

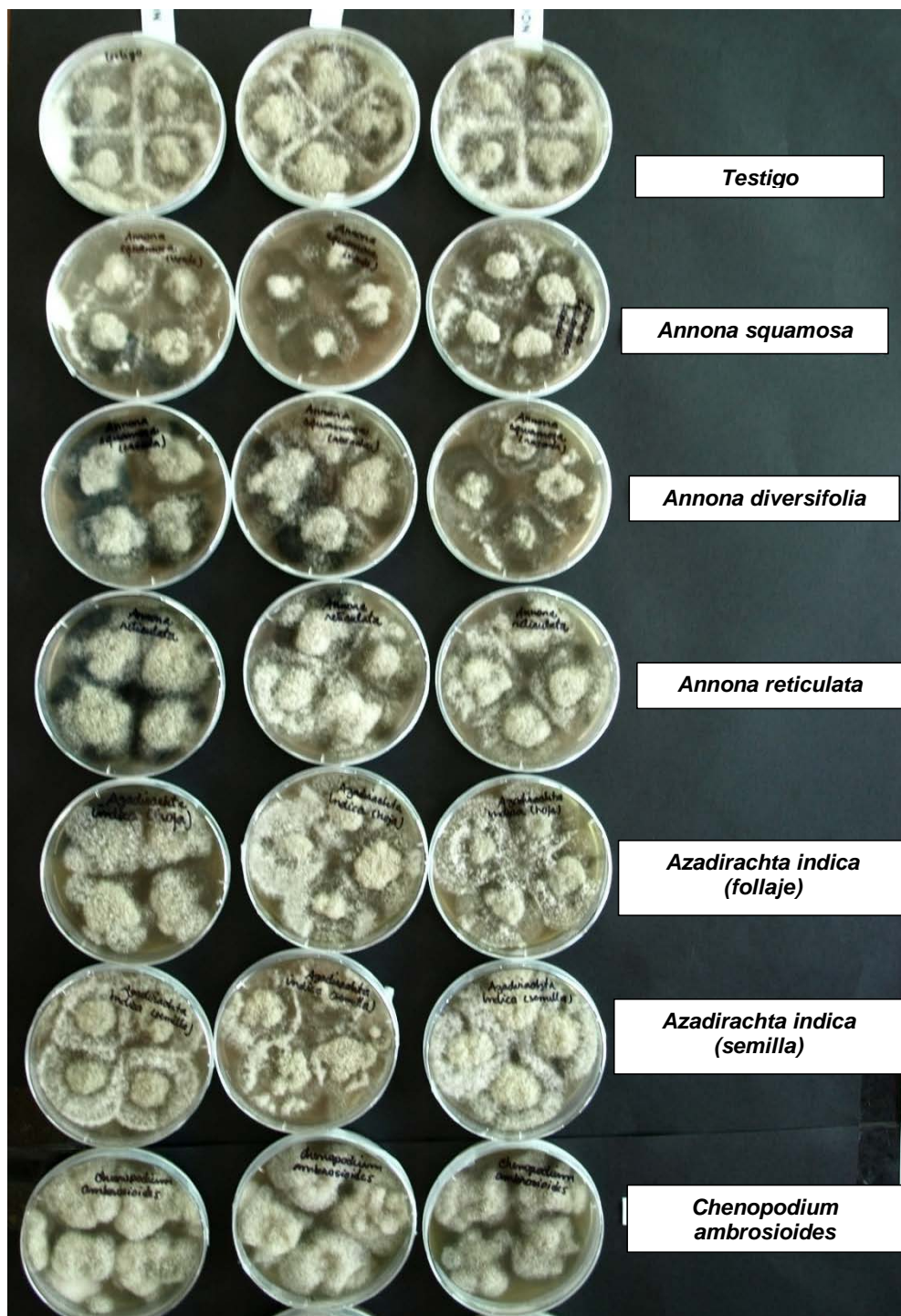
**ANEXO 7**  
**PRUEBA DE EFECTO ANTIFÚNGICO DE EXTRACTOS VEGETALES**  
**SOBRE *Alternaria solani* al 2,0 % DE CONCENTRACIÓN**

<b>Área de la colonia en la placa (mm<sup>2</sup>)</b>				
<b>Tratamiento</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>
Testigo	1 296,75	1 206,00	1 260,75	1 254,50
Ricinus comunis	1 141,75	1 341,00	1 232,50	1 238,42
Azadirachta indica- semilla	1 252,25	1 183,00	1 221,50	1 218,92
Sida rhombifolia	1 228,00	1 140,75	1 253,50	1 207,42
Annona reticulata	1 202,25	1 211,00	1 199,00	1 204,08
Annona diversifolia	1 110,00	1 219,00	1 188,50	1 172,50
Plantago major	1 176,75	1 120,75	1 209,25	1 168,92
Lippia alba	1 144,25	1 181,75	1 177,25	1 167,75
Annona squamosa	1 152,25	1 125,25	1 211,25	1 162,92
Chenopodium ambrosioides	1 107,00	1 168,00	1 079,00	1 118,00
Equisetum giganteum	1 146,50	1 110,75	1 092,75	1 116,67
Azadirachta indica- follaje	1 064,25	1 076,50	1 068,75	1 069,83
Gliricidia sepium	600,75	768,50	841,00	736,75
<b>Porcentaje de inhibición micelial</b>				
<b>Tratamiento</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>
Testigo	0,00	0,00	0,00	0,00
Ricinus comunis	4,59	0,00	0,87	0,69
Azadirachta indica- semilla	0,08	2,88	1,31	1,42
Sida rhombifolia	1,05	4,63	0,03	1,90
Annona reticulata	2,09	1,74	2,23	2,02
Annona diversifolia	5,92	1,41	2,66	3,33
Plantago major	3,14	5,47	1,81	3,47
Lippia alba	4,48	2,93	3,12	3,51
Annona squamosa	4,15	5,28	1,73	3,72
Chenopodium ambrosioides	6,05	3,50	7,25	5,60
Equisetum gigantum	4,39	5,89	6,66	5,65
Azadirachta indica- follaje	7,88	7,36	7,69	7,64
Gliricidia sepium	30,79	21,72	18,11	23,54

Fuente: Investigación de campo, 2015.

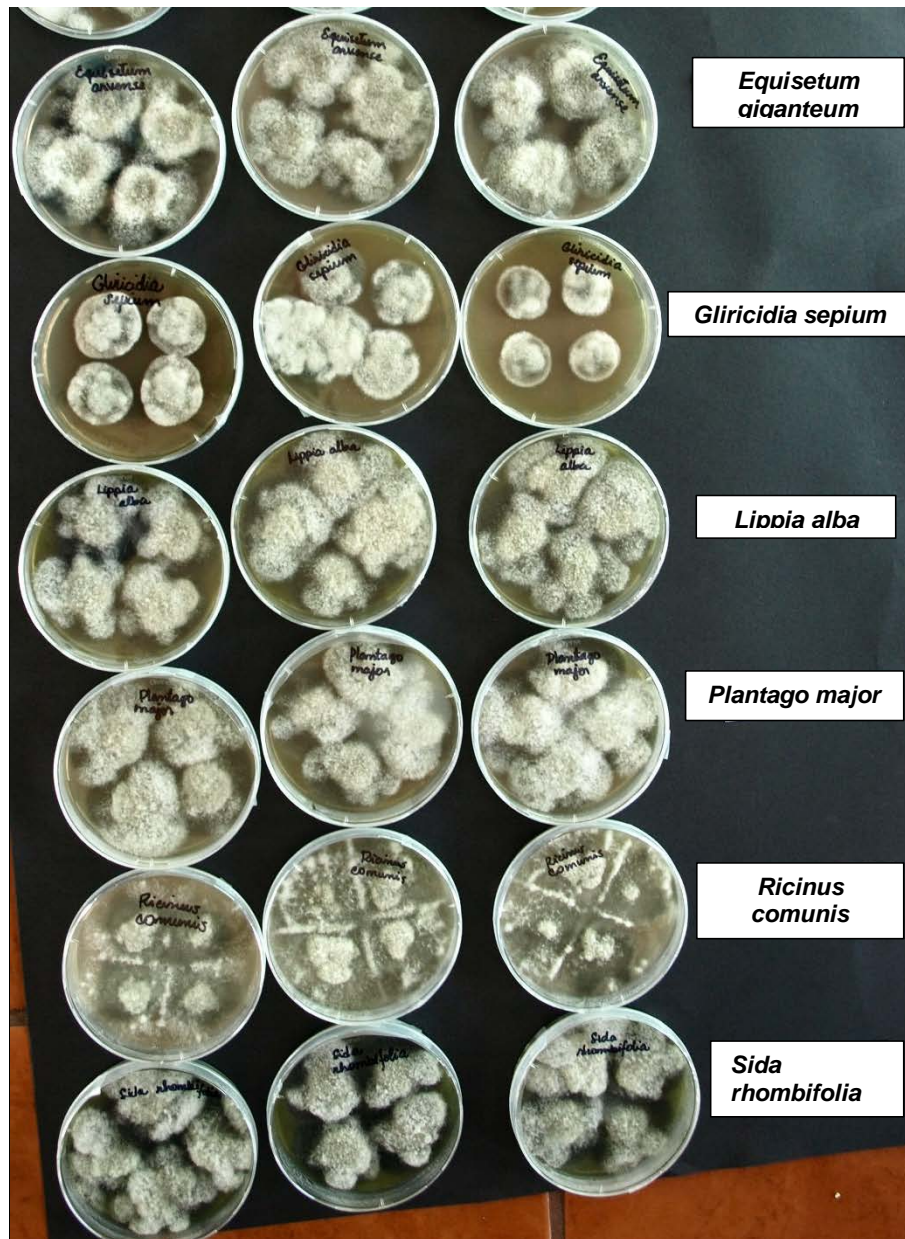


**IMAGEN 10**  
**PRUEBA DE EFECTO ANTIFÚNGICO DE EXTRACTOS VEGETALES**  
**SOBRE *Alternaria solani* al 2,0 % DE CONCENTRACIÓN**



Tomado por: Eunice Lissette Pax Cucul, 2015.

**IMAGEN 11**  
**PRUEBA DE EFECTO ANTIFÚNGICO DE EXTRACTOS VEGETALES**  
**SOBRE *Alternaria solani* al 2,0 % DE CONCENTRACIÓN**



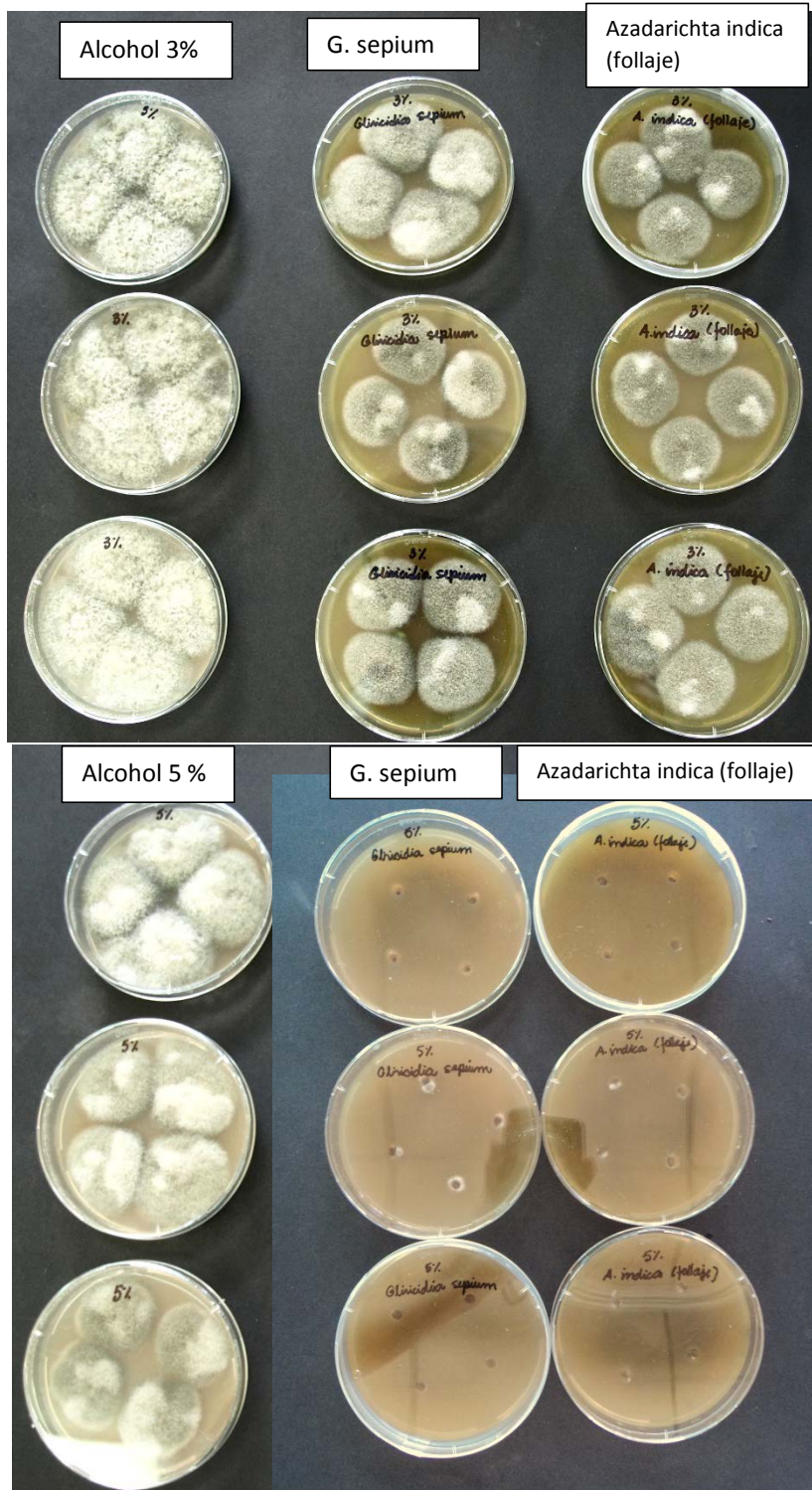
Tomado por: Eunice Lissette Pax Cucul, 2015.

**ANEXO 8**  
**PRUEBA DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE LOS**  
**EXTRACTOS VEGETALES EFECTO SOBRE *Alternaria solani***

<b>Área de la colonia en la placa (mm<sup>2</sup>)</b>					
<b>Extracto</b>	<b>Dosis</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>
Alcohol	2 %	1 183,50	1 232,00	1 071,00	1 162,17
	3 %	775,25	839,75	1 071,00	895,33
	4 %	870,50	959,75	790,75	873,67
	5 %	631,25	799,75	797,25	742,75
Gliricidia sepium	2 %	841,75	932,75	841,00	871,83
	3 %	756,25	606,25	809,75	724,08
	4 %	511,50	335,00	632,00	492,83
	5 %	0,00	0,00	0,00	0,00
Azadirachta indica (follaje)	2 %	1 076,50	1 068,75	1 064,25	1 069,83
	3 %	690,25	718,25	601,25	669,92
	4 %	287,00	509,75	97,00	297,92
	5 %	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Porcentaje de inhibición micelial</b>					
<b>Extracto</b>	<b>Dosis</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>
Alcohol	2 %	2,86	0,89	7,59	3,78
	3 %	21,38	18,17	3,96	14,51
	4 %	16,69	12,52	17,48	15,56
	5 %	29,06	20,15	17,14	22,11
Gliricidia sepium	2 %	18,08	13,76	14,90	15,58
	3 %	22,35	30,48	16,49	23,11
	4 %	36,14	48,32	26,22	36,89
	5 %	100,00	100,00	100,00	100,00
Azadirachta indica (follaje)	2 %	7,36	7,69	4,26	6,44
	3 %	25,81	24,33	28,04	26,06
	4 %	52,16	36,25	71,10	53,17
	5 %	100,00	100,00	100,00	100,00

Fuente: Investigación de campo, 2015.

**IMAGEN 12**  
**PRUEBA DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE LOS**  
**EXTRACTOS VEGETALES EFECTO SOBRE *Alternaria solani***



Tomado por: Eunice Lissette Pax Cucul, 2015.



# CUNOR

CENTRO UNIVERSITARIO DEL NORTE

Universidad de San Carlos de Guatemala



15114

El Director del Centro Universitario del Norte de la Universidad de San Carlos, luego de conocer el dictamen de la Comisión de Trabajos de Graduación de la carrera de:

## Agronomía

Al trabajo titulado:

**"Evaluación de la actividad inhibitoria de 12 extractos vegetales sobre el crecimiento *in vitro* de los hongos fitopatógenos: *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani*, en Cobán, Alta Verapaz"**

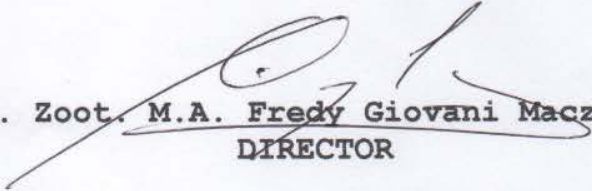
Presentado por el (la) estudiante:

**Eunice Lissette Pax Cucul**

Autoriza el

# IMPRIMASE

*"Id y enseñad a todos"*

Lic. Zoot. M.A.  Choc  
DIRECTOR



Cobán, Alta Verapaz septiembre del 2015