	<b>MACROPROCESO DE APOYO</b>	CODIGO: AAAR113
	<b>PROCESO GESTION APOYO ACADEMICO</b>	VERSION:1
	<b>DESCRIPCIÓN, AUTORIZACIÓN Y LICENCIA DEL REPOSITORIO INSTITUCIONAL</b>	PAGINA: 1 de 8

**FECHA** miércoles, 15 de febrero de 2017

Señores  
**UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA**  
 BIBLIOTECA  
 Fusagasugá, Cundinamarca


<b>SEDE/SECCIONAL/EXTENSIÓN</b>	Sede Fusagasugá
<b>DOCUMENTO</b>	Trabajo De Grado
<b>FACULTAD</b>	Ciencias Agropecuarias
<b>NIVEL ACADÉMICO DE FORMACIÓN O PROCESO</b>	Pregrado
<b>PROGRAMA ACADÉMICO</b>	Ingeniería Agronómica

El Autor(Es):

<b>APELLIDOS COMPLETOS</b>	<b>NOMBRES COMPLETOS</b>	<b>NO. DOCUMENTO DE IDENTIFICACIÓN</b>
González Ruiz	German Camilo	1069746042
Bustos Moreno	Sergio David	1022395182

Director(Es) del documento:

<b>APELLIDOS COMPLETOS</b>	<b>NOMBRES COMPLETOS</b>
Rojas Gracia	Pilar
Mendoza Forero	Cristina

	<b>MACROPROCESO DE APOYO</b>	CODIGO: AAAr113
	<b>PROCESO GESTION APOYO ACADEMICO</b>	VERSION:1
	<b>DESCRIPCIÓN, AUTORIZACIÓN Y LICENCIA DEL REPOSITORIO INSTITUCIONAL</b>	PAGINA: 2 de 8

<b>TÍTULO DEL DOCUMENTO</b>
<b>EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE DOS EXTRACTOS VEGETALES DE <i>Piper arthante</i> Y <i>Piper eriopodon</i> PARA EL CONTROL DE <i>Fusarium oxysporum</i> EN PLÁNTULAS DE GULUPA (<i>Passiflora edulis</i> Sims)</b>

<b>TRABAJO PARA OPTAR AL TITULO DE: Aplica para Tesis/Trabajo de Grado/Pasantía</b>
<b>Ingeniero Agrónomo</b>


<b>AÑO DE EDICION DEL DOCUMENTO</b>	<b>NÚMERO DE PÁGINAS (Opcional)</b>
08/02/2017	71

<b>DESCRIPTORES O PALABRAS CLAVES EN ESPAÑOL E INGLES: (Usar como mínimo 6 descriptores)</b>	
<b>ESPAÑOL</b>	<b>INGLES</b>
1. <i>Piper eriopodon</i>	<i>Piper eriopodon</i>
2. <i>Piper arthante</i>	<i>Piper arthante</i>
3. <i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>
4. Actividad biológica	Biological activity
5. Efecto preventivo	Preventive effect
6.	

<b>RESUMEN DEL CONTENIDO EN ESPAÑOL E INGLES: (Máximo 250 palabras – 1530 caracteres):</b>
--

**RESUMEN.**

La Gulupa, *Passiflora edulis* Sims, se encuentra entre los cultivos de frutales de gran importancia en Colombia debido a su potencial en el mercado internacional. Una de las enfermedades con más relevancia económica es la enfermedad causada por el hongo *Fusarium oxysporum*. Una nueva alternativa dentro del área de Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades (MIPE), es el uso de aceites esenciales, extractos vegetales y

	<b>MACROPROCESO DE APOYO</b>	CODIGO: AAAr113
	<b>PROCESO GESTION APOYO ACADEMICO</b>	VERSION:1
	<b>DESCRIPCIÓN, AUTORIZACIÓN Y LICENCIA DEL REPOSITORIO INSTITUCIONAL</b>	PAGINA: 3 de 8

metabolitos secundarios, para su control. Estos productos son amigables con el medio ambiente y son eficientes en el control de enfermedades.


El objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad biológica de dos extractos vegetales, obtenidos de inflorescencias de *Piper arthante* y hojas de *Piper eriopodon* para el control de *Fusarium oxysporum* en plántulas de Gulupa (*Passiflora edulis* Sims.). De cada extracto se evaluaron tres dosis de forma preventiva y de forma curativa, diseñadas a partir de la concentración mínima inhibitoria determinada por el grupo de química de la Universidad Nacional de Colombia (30 mg/ml *Piper eriopodon* y 3,7 mg/ml *Piper arthante*).

Los resultados muestran que la aplicación de los extractos no tiene un efecto curativo sobre la enfermedad. Sin embargo, algunos tratamientos mostraron tener efectos preventivos. La mayor eficacia de control a nivel preventivo se obtuvo con el extracto de *Piper arthante* a una dosis de 3,7 mg/ml, mostrando diferencia significativa respecto a los dos tratamientos restantes y el testigo. Estos resultados indican que el extracto Vegetal de *Piper arthante* podría ser una buena alternativa para prevenir la enfermedad causada por el hongo *Fusarium oxysporum*.

#### **ABSTRACT.**

The Gulupa, *Passiflora edulis* Sims, is among the fruit crops of great importance in Colombia due to the international market potential. One of the diseases with more economic relevance is the disease caused by the fungus *Fusarium oxysporum*. A new alternative in the area of Integrated Management of Pests and Diseases, is the use of essential oils, plant extracts and secondary metabolites, to control the fungus. These products are environmentally friendly and have proven to be efficient in disease control. In turn, they present a low cost which contributes to mitigate the needs of the farmers.

The objective of this research was to evaluate the biological activity of two plant extracts, obtained from inflorescences of *Piper arthante* and leaves of *Piper eriopodon*, for the control of *Fusarium oxysporum* in Gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) seedlings. From each extract three preventive and curative doses were evaluated, based on the minimum

	<b>MACROPROCESO DE APOYO</b>	CODIGO: AAAr113
	<b>PROCESO GESTION APOYO ACADEMICO</b>	VERSION:1
	<b>DESCRIPCIÓN, AUTORIZACIÓN Y LICENCIA DEL REPOSITORIO INSTITUCIONAL</b>	PAGINA: 4 de 8

inhibitory concentration determined by the chemistry group of the National University of Colombia (30 mg / ml *Piper eriopodon* and 3.7 mg / ml *Piper arthante*).

The results show that the extracts application do not have a curative effect on the disease. However, some treatments showed preventive effects. The highest preventative control efficacy was obtained with *Piper arthante* extract at a dose of 3.7 mg / ml, showing a significant difference respect to the remaining two treatments and the control. These results indicate that *Piper arthante* plant extract could be an alternative to prevent disease caused by the fungus *Fusarium oxysporum*.

### AUTORIZACION DE PUBLICACIÓN

Por medio del presente escrito Autorizamos a la Universidad de Cundinamarca para que, en desarrollo de la presente licencia de uso parcial, pueda ejercer sobre nuestra obra las atribuciones que se indican a continuación, teniendo en cuenta que, en cualquier caso, la finalidad perseguida será facilitar, difundir y promover el aprendizaje, la enseñanza y la investigación.

En consecuencia, las atribuciones de usos temporales y parciales que por virtud de la presente licencia se autoriza a la Universidad de Cundinamarca, a los usuarios de la Biblioteca de la Universidad; así como a los usuarios de las redes, bases de datos y demás sitios web con los que la Universidad tenga perfeccionado un alianza, son:

Marque con una "x":

AUTORIZO (AUTORIZAMOS)	SI	NO
1. La conservación de los ejemplares necesarios en la Biblioteca.	X	
2. La consulta física o electrónica según corresponda.	X	
3. La reproducción por cualquier formato conocido o por conocer.	X	
4. La comunicación pública por cualquier procedimiento o medio físico o electrónico, así como su puesta a disposición en Internet.	X	
5. La inclusión en bases de datos y en sitios web sean éstos onerosos o gratuitos, existiendo con ellos previa alianza perfeccionada con la Universidad de Cundinamarca para	X	

	<b>MACROPROCESO DE APOYO</b>	CODIGO: AAAr113
	<b>PROCESO GESTION APOYO ACADEMICO</b>	VERSION:1
	<b>DESCRIPCIÓN, AUTORIZACIÓN Y LICENCIA DEL REPOSITORIO INSTITUCIONAL</b>	PAGINA: 5 de 8


efectos de satisfacer los fines previstos. En este evento, tales sitios y sus usuarios tendrán las mismas facultades que las aquí concedidas con las mismas limitaciones y condiciones.		
6. La inclusión en el Repositorio Institucional.	X	

De acuerdo con la naturaleza del uso concedido, la presente licencia parcial se otorga a título gratuito por el máximo tiempo legal colombiano, con el propósito de que en dicho lapso nuestra obra sea explotada en las condiciones aquí estipuladas y para los fines indicados, respetando siempre la titularidad de los derechos patrimoniales y morales correspondientes, de acuerdo con los usos honrados, de manera proporcional y justificada a la finalidad perseguida, sin ánimo de lucro ni de comercialización.

Para el caso de las Tesis, Trabajo de Grado o Pasantía, de manera complementaria, garantizamos en nuestra calidad de estudiantes y por ende autores exclusivos, que la Tesis, Trabajo de Grado o Pasantía en cuestión, es producto de nuestra plena autoría, de nuestro esfuerzo personal intelectual, como consecuencia de nuestra creación original particular y, por tanto, somos los únicos titulares de la misma. Además, aseguramos que no contiene citas, ni transcripciones de otras obras protegidas, por fuera de los límites autorizados por la ley, según los usos honrados, y en proporción a los fines previstos; ni tampoco contempla declaraciones difamatorias contra terceros; respetando el derecho a la imagen, intimidad, buen nombre y demás derechos constitucionales. Adicionalmente, manifestamos que no se incluyeron expresiones contrarias al orden público ni a las buenas costumbres. En consecuencia, la responsabilidad directa en la elaboración, presentación, investigación y, en general, contenidos de la Tesis o Trabajo de Grado es de nuestra competencia exclusiva, eximiendo de toda responsabilidad a la Universidad de Cundinamarca por tales aspectos.

Sin perjuicio de los usos y atribuciones otorgadas en virtud de este documento, continuaremos conservando los correspondientes derechos patrimoniales sin modificación o restricción alguna, puesto que, de acuerdo con la legislación colombiana aplicable, el presente es un acuerdo jurídico que en ningún caso conlleva la enajenación de los derechos patrimoniales derivados del régimen del Derecho de Autor.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, "*Los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores*", los cuales son irrenunciables,

	<b>MACROPROCESO DE APOYO</b>	CODIGO: AAAr113
	<b>PROCESO GESTION APOYO ACADEMICO</b>	VERSION:1
	<b>DESCRIPCIÓN, AUTORIZACIÓN Y LICENCIA DEL REPOSITORIO INSTITUCIONAL</b>	PAGINA: 6 de 8

imprescriptibles, inembargables e inalienables. En consecuencia, la Universidad de Cundinamarca está en la obligación de RESPETARLOS Y HACERLOS RESPETAR, para lo cual tomará las medidas correspondientes para garantizar su observancia.

**NOTA:** (Para Tesis, Trabajo de Grado o Pasantía):


**Información Confidencial:**

Esta Tesis, Trabajo de Grado o Pasantía, contiene información privilegiada, estratégica, secreta, confidencial y demás similar, o hace parte de la investigación que se adelanta y cuyos resultados finales no se han publicado. **SI X NO \_\_\_\_**. En caso afirmativo expresamente indicaremos, en carta adjunta tal situación con el fin de que se mantenga la restricción de acceso.

**LICENCIA DE PUBLICACIÓN**

Como titular(es) del derecho de autor, conferimos a la Universidad de Cundinamarca una licencia no exclusiva, limitada y gratuita sobre la obra que se integrará en el Repositorio Institucional, que se ajusta a las siguientes características:

- a) Estará vigente a partir de la fecha de inclusión en el repositorio, por un plazo de 5 años, que serán prorrogables indefinidamente por el tiempo que dure el derecho patrimonial del autor. El autor podrá dar por terminada la licencia solicitándolo a la Universidad por escrito. (Para el caso de los Recursos Educativos Digitales, la Licencia de Publicación será permanente).
- b) Autoriza a la Universidad de Cundinamarca a publicar la obra en formato y/o soporte digital, conociendo que, dado que se publica en Internet, por este hecho circula con un alcance mundial.
- c) Los titulares aceptan que la autorización se hace a título gratuito, por lo tanto, renuncian a recibir beneficio alguno por la publicación, distribución, comunicación pública y cualquier otro uso que se haga en los términos de la presente licencia y de la licencia de uso con que se publica.
- d) Los Autores, garantizamos que el documento en cuestión, es producto de nuestra plena autoría, de nuestro esfuerzo personal intelectual, como consecuencia de nuestra creación original particular y, por tanto, somos los únicos titulares de la misma. Además, aseguramos que no contiene citas, ni

	<b>MACROPROCESO DE APOYO</b>	CODIGO: AAAr113
	<b>PROCESO GESTION APOYO ACADEMICO</b>	VERSION:1
	<b>DESCRIPCIÓN, AUTORIZACIÓN Y LICENCIA DEL REPOSITORIO INSTITUCIONAL</b>	PAGINA: 7 de 8

transcripciones de otras obras protegidas, por fuera de los límites autorizados por la ley, según los usos honrados, y en proporción a los fines previstos; ni tampoco contempla declaraciones difamatorias contra terceros; respetando el derecho a la imagen, intimidad, buen nombre y demás derechos constitucionales. Adicionalmente, manifestamos que no se incluyeron expresiones contrarias al orden público ni a las buenas costumbres. En consecuencia, la responsabilidad directa en la elaboración, presentación, investigación y, en general, contenidos es de nuestra competencia exclusiva, eximiendo de toda responsabilidad a la Universidad de Cundinamarca por tales aspectos.

e) En todo caso la Universidad de Cundinamarca se compromete a indicar siempre la autoría incluyendo el nombre del autor y la fecha de publicación.

f) Los titulares autorizan a la Universidad para incluir la obra en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

g) Los titulares aceptan que la Universidad de Cundinamarca pueda convertir el documento a cualquier medio o formato para propósitos de preservación digital.

h) Los titulares autorizan que la obra sea puesta a disposición del público en los términos autorizados en los literales anteriores bajo los límites definidos por la universidad en las “Condiciones de uso de estricto cumplimiento” de los recursos publicados en Repositorio Institucional, cuyo texto completo se puede consultar en [biblioteca.unicundi.edu.co](http://biblioteca.unicundi.edu.co)

i) Para el caso de los Recursos Educativos Digitales producidos por la Oficina de Educación Virtual, sus contenidos de publicación se rigen bajo la Licencia Creative Commons : Atribución- No comercial- Compartir Igual.



j) Para el caso de los Artículos Científicos y Revistas, sus contenidos se rigen bajo la Licencia Creative Commons Atribución- No comercial- Sin derivar.



**Nota:**

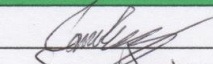
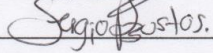
Si el documento se basa en un trabajo que ha sido patrocinado o apoyado por una entidad, con excepción de Universidad de Cundinamarca, los autores garantizan que se ha cumplido con los derechos y obligaciones requeridos por el respectivo contrato o acuerdo.

	<b>MACROPROCESO DE APOYO</b>	CODIGO: AAAr113
	<b>PROCESO GESTION APOYO ACADEMICO</b>	VERSION:1
	<b>DESCRIPCIÓN, AUTORIZACIÓN Y LICENCIA DEL REPOSITORIO INSTITUCIONAL</b>	PAGINA: 8 de 8

La obra que se integrará en el Repositorio Institucional, está en el(los) siguiente(s) archivo(s).

Nombre completo del Archivo Incluida su Extensión (Ej. Titulo Trabajo de Grado o Documento.pdf)	Tipo de documento (ej. Texto, imagen, video, etc.)
1. <b>EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE DOS EXTRACTOS VEGETALES DE <i>Piper arthante</i> Y <i>Piper eriopodon</i> PARA EL CONTROL DE <i>Fusarium oxysporum</i> EN PLÁNTULAS DE GULUPA (<i>Passiflora edulis</i> Sims)</b>	Texto

En constancia de lo anterior, Firmo (amos) el presente documento:

APELLIDOS Y NOMBRES COMPLETOS	FIRMA
Gonzalez Pozo Simon Carlo	
Bustos Moreno Sergio David.	



**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE DOS EXTRACTOS VEGETALES DE  
*Piper arthante* Y *Piper eriopodon* PARA EL CONTROL DE *Fusarium oxysporum* EN  
PLÁNTULAS DE GULUPA (*Passiflora edulis* Sims)**

**GERMAN CAMILO GONZALEZ RUIZ**

**SERGIO DAVID BUSTOS MORENO**



**UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**Fusagasugá**

**2016**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE DOS EXTRACTOS VEGETALES DE  
*Piper arthante* Y *Piper eriopodon* PARA EL CONTROL DE *Fusarium oxysporum* EN  
PLÁNTULAS DE GULUPA (*Passiflora edulis* Sims)**

**Trabajo de grado para optar al título  
De Ingeniero Agrónomo**

**DIRECTORA**

**PILAR ROJAS GRACIA. Microbióloga. *MSc. PhD***

**CODIRECTORA**

**CRISTINA MENDOZA FORERO. Bióloga. *MSc***

**UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**Fusagasugá**

**2016**

## **DEDICATORIA**

### **German Camilo González Ruiz**

A mi familia en especial por ser un apoyo incondicional en el transcurso de este camino, a mi madre por ser la persona quien me ha guiado y apoyado en todos los momentos de la vida y me dio el ejemplo para ser una persona íntegra y con valores para salir adelante en mis estudios. A mi pareja por ser un apoyo incondicional y estar hay para mostrarme su cariño y comprensión en los momentos difíciles. Por ultimo agradezco a los profesores por las enseñanzas otorgas y a la universidad de Cundinamarca por permitirme pertenecer a tan grande institución.

### **Sergio David Bustos Moreno**

A mis padres que son las personas que me han brindado el apoyo y los valores necesarios para ser una mejor persona, a mis hermanos por los consejos y el apoyo anímico para lograr las metas propuestas, a mis amigos que de alguna manera me ayudaron en el desarrollo de mis estudios, a mis profesores que hicieron parte del proceso de enseñanza y formación como profesional, a la universidad de Cundinamarca por brindarme la oportunidad de culminar mis estudios de pregrado.

## AGRADECIMIENTOS

A nuestras directoras Pilar Rojas Gracia y Cristina Mendoza Forero, por la colaboración en el transcurso del trabajo.

A la Universidad de Cundinamarca y el personal del laboratorio de microbiología por su colaboración.

A Colciencias, por cofinanciar este trabajo a través del proyecto “Ecofisiología, nutrición mineral y manejo integrado de plagas y enfermedades en aguacate, curuba, gulupa y tomate de árbol orientados hacia su manejo agronómico, como materia prima para el desarrollo de productos de interés comercial” el cual es un componente de la Red Nacional para la Bioprospección de Frutas Tropicales – RIFRUTBIO (código 550854332012, CONTRATO RC No. 0459-2013)

A la Universidad Nacional de Colombia y en particular al grupo de investigación “Estudio químico y de actividad biológica de *Rutaceae* y *Myristicaceae* colombianas”, especialmente a la profesora Mónica Constanza Ávila Murillo por su asesoría y guía en la elaboración de extractos vegetales.

## Tabla de contenido

	RESUMEN.....	9
	ABSTRACT.....	10
1	INTRODUCCIÓN.....	11
2	MARCO TEÓRICO.....	14
	GULUPA.....	14
2.1	2.1.1 Descripción Morfológica .....	15
	2.1.2 Enfermedades en Gulupa ( <i>Passiflora edulis</i> Sims).....	17
	ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LA FAMILIA PIPERACEAE.....	21
2.2	2.2.1 Definición y generalidades.....	21
3	OBJETIVOS.....	24
	OBJETIVO GENERAL.....	24
3.1	3.1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
4	MATERIALES Y MÉTODOS .....	25
4.1	UBICACIÓN Y CARACTERÍSTICAS AGRO CLIMATOLÓGICAS: .....	25
4.2	MATERIALES Y EQUIPOS .....	25
	4.2.1 Equipos .....	25
4.3	4.2.2 Materiales.....	25
4.4	COLECTA DE MATERIAL VEGETAL (Plantas del género <i>Piper</i> ).....	25
4.5	OBTENCIÓN EXTRACTOS VEGETALES.....	26
	PREPARACIÓN DE MATERIAL VEGETAL (Gulupa) .....	28
4.6	4.5.1 Protocolo de germinación .....	28
4.7	4.5.2 Siembra de plántulas .....	29
4.8		
4.9	REPIQUES DE CEPA DE <i>Fusarium oxysporum</i> .....	30
	PREPARACIÓN DEL INÓCULO.....	31
4.10	PREPARACIÓN SOLUCIONES DE EXTRACTOS DE <i>Piper</i> .....	33
	APLICACIÓN PREVENTIVA-CURATIVA EXTRACTOS VEGETALES <i>Piper</i> <i>arthante</i> Y <i>Piper eriopodon</i> .....	34
	MÉTODO DE ANÁLISIS .....	35
	4.10.1 METODOLOGÍA DE MUESTREO .....	36
	4.10.2 VARIABLES DE EVALUACIÓN.....	36
5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39

	TRATAMIENTO PREVENTIVO Y CURATIVO DEL EXTRACTO VEGETAL DE <i>Piper arthante</i> PARA EL CONTROL DE LA ENFERMEDAD.....	39
	TRATAMIENTO PREVENTIVO Y CURATIVO DEL EXTRACTO VEGETAL DE <i>Piper eriopodon</i> PARA EL CONTROL DE LA ENFERMEDAD.....	42
	PORCENTAJE EFICACIA DE EXTRACTOS VEGETALES EN APLICACIÓN	
5.1	PREVENTIVA Y CURATIVA .....	46
5.2	PORCENTAJE DE SEVERIDAD DE <i>Fusarium oxysporum</i> , EN TRATAMIENTOS CURATIVOS DE LOS EXTRACTOS.....	49
5.3	PORCENTAJE DE SEVERIDAD DE <i>Fusarium oxysporum</i> , EN TRATAMIENTOS PREVENTIVOS DE LOS EXTRACTOS .....	51
5.4		
5.5	PORCENTAJE MORTALIDAD DE <i>Fusarium oxysporum</i> , EN PLANTULAS DE GULUPA .....	54
5.6	REASLAMIENTO <i>Fusarium oxysporum</i> .....	56
5.7	SEGUNDA EVALUACION .....	57
5.8	<b>6 CONCLUSIONES.....</b>	<b>62</b>
	<b>7 RECOMENDACIONES.....</b>	<b>63</b>
	<b>8 BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>64</b>
	<b>9 ANEXOS .....</b>	<b>68</b>

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Plántulas de Gulupa utilizadas en el ensayo ( <i>Passiflora edulis</i> Sims) (Ortiz Vallejo, 2010).....	16
Figura 2. Ciclo patológico de <i>Fusarium oxysporum</i> . Fuente: (Agrios, 2005).....	19
Figura 3. Recolección del material vegetal de las plantas <i>Piper eriopodon</i> y <i>Piper arthante</i> . .....	26
Figura 4. Elaboración del extracto de <i>P. eriopodon</i> .....	27
Figura 5. Elaboración de extractos de <i>P. arthante</i> . .....	28
Figura 6. Tratamiento pre germinativo semillas de Gulupa. ....	29
Figura 7. Siembra y establecimiento de los tratamientos, Invernadero universidad de Cundinamarca, sede Fusagasugá. ....	30
Figura 8 Repique de hongo. a) Autoclave, b) Medio PDA, c) Hongo <i>F. Oxysporum</i> , d) Repique, e) Hongo repicado. ....	31
Figura 9. Preparación de inóculo. a) Raspado de caja de petri, b) Filtración, c) Conteo de esporas en el microscopio, d) Cuadrícula cámara de Neubauer. ....	32
Figura 10. Soluciones disueltas. <i>Piper arthante</i> (izq.), <i>Piper eriopodon</i> (der.) .....	34
Figura 11. Procedimiento inoculación patógeno en plántulas de Gulupa .....	35
Figura 12 Repartición tratamientos en invernadero.....	36
Figura 13. Porcentaje de incidencia de <i>Fusarium oxysporum</i> , tratamiento preventivo <i>Piper arthante</i> . ....	40
Figura 14. Porcentaje de incidencia de <i>Fusarium oxysporum</i> , tratamiento curativo <i>Piper arthante</i> . ....	42
Figura 15. Porcentaje de incidencia de <i>Fusarium oxysporum</i> , tratamiento preventivo <i>Piper eriopodon</i> .....	43
Figura 16. Porcentaje de incidencia de <i>Fusarium oxysporum</i> , tratamiento curativo <i>Piper eriopodon</i> .....	44
Figura 17. Sintomatología asociada a fitotoxicidad causada por <i>Piper eriopodon</i> en plántulas de Gulupa. ....	45
Figura 18. Valores promedio de área bajo la curva de progreso de la enfermedad para la variable incidencia de la enfermedad (ABCPE es adimensional) .....	46
Figura 19. Porcentaje Eficacia extractos vegetales aplicación preventiva. ....	47
Figura 20. Porcentaje Eficacia extractos vegetales aplicación curativa. ....	48
Figura 21. Porcentaje de severidad tratamiento curativo <i>Piper arthante</i> .....	50
Figura 22. Porcentaje de severidad tratamiento curativo <i>Piper eriopodon</i> .....	51
Figura 23. Porcentaje de severidad tratamiento preventivo <i>Piper arthante</i> .....	52
Figura 24. Porcentaje de severidad tratamiento preventivo <i>Piper eriopodon</i> . ....	52
<b>Figura 25. Valores promedio de área bajo la curva de progreso de la enfermedad para la variable severidad de la enfermedad (ABCPE es adimensional).</b> .....	<b>54</b>
Figura 26. Porcentaje de mortalidad causado por <i>Fusarium oxysporum</i> en plántulas de Gulupa. ....	55

Figura 27. Apariencia macroscópica y Sintomatología del hongo <i>F. oxysporum</i> . .....	57
Figura 28. Porcentaje de incidencia, tratamientos de mayor control del patógeno. ....	58
Figura 29. Porcentaje de severidad, tratamientos de mayor control del patógeno. ....	59
Figura 30. Porcentaje de eficacia preventivo, tratamientos de mayor control .....	60



## GLOSARIO

**CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA:** En microbiología, es la concentración más baja de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento de un microorganismo después de su incubación.

**CULTIVO PURO:** Son aquellos que contienen un solo tipo de microorganismo. El modo de obtener estos cultivos consiste en obtener colonias aisladas, que provienen de una sola célula (son clones).

**EXTRACTO:** Se define como extracto vegetal el producto líquido obtenido a partir de plantas o parte de ellas con varios procedimientos y con varios solventes.

**CÁMARA DE NEUBAUER:** Aparato para contar el número de células existentes en un volumen de sangre o de otro líquido. Consiste en un portaobjetos de microscopio con una cámara de recuento. La cámara tiene un volumen conocido y el portaobjetos tiene un área rayada para ayudar al recuento de las células.

**INCIDENCIA:** Es la proporción (o porcentaje) de unidades enfermas. Las unidades pueden ser plantas completas u órganos (tallos, raíces, frutos, etc.). Es una medida cuantitativa.

**INÓCULO:** Se refiere a los microorganismos o sus partes (esporas, fragmentos materiales, etc.) capaces de provocar infección o simbiosis cuando se transfieren a un hospedero.

**METABOLISMO:** El metabolismo es el conjunto de reacciones químicas que realizan las células de los seres vivos para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o para degradar las complejas y obtener las simples.

**REPIQUE:** Consiste en colocar al microorganismo ya aislado en un nuevo medio de cultivo a fin de conservarlo a través del tiempo.

**SEVERIDAD:** Se refiere al nivel promedio de enfermedad de una unidad. Se lo expresa como el área o volumen de tejido vegetal que está enfermo, usualmente en referencia al área o volumen total (en %). Es una medida cualitativa.

## RESUMEN

La Gulupa, *Passiflora edulis* Sims, se encuentra entre los cultivos de frutales de gran importancia en Colombia debido a su potencial en el mercado internacional. Las propiedades organolépticas y físicas hacen que esta fruta sea muy apetecible por los consumidores europeos. Una de las enfermedades con más relevancia económica es la enfermedad causada por el hongo *Fusarium oxysporum*. El control de esta enfermedad requiere el uso de distintos compuestos químicos que pueden ocasionar la erosión del suelo y daños irreversibles en las poblaciones edáficas de microorganismos. Una nueva alternativa dentro del área de Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades (MIPE), es el uso de aceites esenciales, extractos vegetales y metabolitos secundarios, para su control. Estos productos son amigables con el medio ambiente y se ha comprobado que son eficientes en el control de enfermedades. A su vez, presentan un bajo costo lo que contribuye a mitigar las necesidades de los agricultores.

El objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad biológica de dos extractos vegetales, obtenidos de inflorescencias de *Piper arthante* y hojas de *Piper eriopodon* para el control de *Fusarium oxysporum* en plántulas de Gulupa (*Passiflora edulis* Sims.). De cada extracto se evaluaron tres dosis de forma preventiva y de forma curativa, diseñadas a partir de la concentración mínima inhibitoria determinada por el grupo de química de la Universidad Nacional de Colombia (30 mg/ml *Piper eriopodon* y 3,7 mg/ml *Piper arthante*). Los resultados muestran que la aplicación de los extractos no tiene un efecto curativo sobre la enfermedad. Sin embargo, algunos tratamientos mostraron tener efectos preventivos. La mayor eficacia de control a nivel preventivo se obtuvo con el extracto de *Piper arthante* a una dosis de 3,7 mg/ml, mostrando diferencia significativa respecto a los dos tratamientos restantes y el testigo. Estos resultados indican que el extracto Vegetal de *Piper arthante* podría ser una buena alternativa para prevenir la enfermedad causada por el hongo *Fusarium oxysporum*.

**Palabras Claves:** *Piper eriopodon*, *Piper arthante*, *Fusarium oxysporum*, actividad biológica, efecto preventivo.

## ABSTRACT

The Gulupa, *Passiflora edulis* Sims, is among the fruit crops of great importance in Colombia due to the international market potential. The organoleptic and physical properties make this fruit very appealing to European consumers. One of the diseases with more economic relevance is the disease caused by the fungus *Fusarium oxysporum*. The control of this disease requires the use of different chemical compounds that can cause soil erosion and irreversible damages in edaphic populations of microorganisms. A new alternative in the area of Integrated Management of Pests and Diseases, is the use of essential oils, plant extracts and secondary metabolites, to control the fungus. These products are environmentally friendly and have proven to be efficient in disease control. In turn, they present a low cost which contributes to mitigate the needs of the farmers.

The objective of this research was to evaluate the biological activity of two plant extracts, obtained from inflorescences of *Piper arthante* and leaves of *Piper eriopodon*, for the control of *Fusarium oxysporum* in Gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) seedlings. From each extract three preventive and curative doses were evaluated, based on the minimum inhibitory concentration determined by the chemistry group of the National University of Colombia (30 mg / ml *Piper eriopodon* and 3.7 mg / ml *Piper arthante*).

The results show that the extracts application do not have a curative effect on the disease. However, some treatments showed preventive effects. The highest preventative control efficacy was obtained with *Piper arthante* extract at a dose of 3.7 mg / ml, showing a significant difference respect to the remaining two treatments and the control. These results indicate that *Piper arthante* plant extract could be an alternative to prevent disease caused by the fungus *Fusarium oxysporum*.

**Key words:** *Piper eriopodon*, *Piper arthante*, *Fusarium oxysporum*, biological activity, preventive effect.

## 1 INTRODUCCIÓN

La Gulupa (*Passiflora edulis* Sims), se encuentra entre los cultivos de frutales de gran importancia en Colombia debido a que es muy apetecible en el mercado internacional debido a sus propiedades organolépticas y físicas, presentándose como una de las líneas de exportación primaria de frutas en Colombia (Pérez y Martínez, 2015).

El área cultivada ha aumentado significativamente en los últimos años, concentrándose en los departamentos del Huila, Valle del Cauca, Magdalena, Cundinamarca y Santander (Miranda *et al.*, 2009). Recientemente el cultivo se extendió a Antioquia, Caldas, Boyacá, y Tolima, en lugares comprendidos entre 1.400-2.200 msnm (Guerrero y Hoyos, 2011). Sin embargo, el volumen de exportación, que manifestaba una tendencia al aumento en el año 2007, presentó un descenso para el año 2011 (Ortiz y Hoyos, 2012). Los principales clientes son Alemania, los Países Bajos, el Reino Unido y Bélgica con ventas de cerca de 1.700.000 dólares en 2007 y hasta U\$ 4.100.000 en 2008, siendo Alemania el mayor toma de mercado aproximadamente del 55% de la producción anual (Proexport Colombia, 2010).

Uno de los principales limitantes del cultivo de Gulupa son las enfermedades que la afectan, en su mayoría, ocasionadas por hongos que se deben identificar oportunamente para implementar su control eficaz, una de las más difíciles de tratar es conocida como Marchitez vascular o fusariosis (*Fusarium oxysporum*), esta enfermedad es causada, porque el hongo infecta los haces vasculares de la planta causando su taponamiento; como consecuencia, inicialmente se presenta clorosis y luego marchitez gradual, caída de las hojas, arrugamiento de los frutos y, finalmente, la muerte de la planta. El hongo generalmente sobrevive en el suelo y penetra por las raíces jóvenes debido a las heridas que causan los insectos, los

nematodos y las herramientas. Cuando se completa el ciclo de la enfermedad, *Fusarium oxysporum* forma sus esporas sobre el tejido muerto y de allí se dispersan fácilmente a corta distancia, por las aguas superficiales y las herramientas contaminadas; a mayor distancia, se dispersan a través de plántulas con suelo infectado (ICA 2011).

Una nueva alternativa tratada en el control de patógenos como práctica MIPE son: aceites esenciales, extractos vegetales y metabolitos secundarios; Esto se evidencia en investigaciones realizadas en Cuba, donde se evaluaron 4 aceites esenciales sobre *Fusarium sp* hasta las 96 horas, demostró una respuesta positiva en los resultados, donde el aceite de *Piper auritum Kunth* (caisimón de anís) provocó total inhibición en el crecimiento de los aislados del fitopatógeno; por su parte, el aceite de *Piper aduncum subsp. Ossanum* (CDC.) Saralegui (platanillo de Cuba) demostró poseer alto poder fungistático (Duarte, 2013).

El control de los organismos fitopatógenos del suelo es de los más difíciles de lograr; para ello se han desarrollado prácticas culturales, control biológico y control químico, siendo este último el más utilizado por ser económico y eficaz, en comparación con otras medidas. Las enfermedades de las plantas causadas por este tipo de hongos se hallan entre los factores más importantes que aumentan las pérdidas y afectan los rendimientos de los cultivos. (Villa-Martínez *et al.*, 2015).

Los organismos patógenos causan pérdidas severas en todo el mundo. Para su control generalmente se aplican fungicidas, su eficacia y su uso continuo ha conducido a brotes de enfermedades, generando efectos adversos para el medio ambiente y los seres humanos, los efectos secundarios de los fungicidas sintéticos han llegado a la necesidad de la activa búsqueda de moléculas bioactivas en plantas, insectos y microorganismos que podrían representar una alternativa para el control químico de la enfermedad. (Ben-Jabeur, Ghabri, Myriam, y Hamada, 2015).

El control de la pudrición causada por *Fusarium oxysporum* se realiza principalmente mediante la aplicación de agentes químicos en el suelo y el uso de

cultivares resistentes (Fravel, Olivain y Alabouvette, 2003). La aplicación de extractos de plantas para reducir la incidencia de microorganismos es una estrategia que ha tenido auge en los últimos años, no obstante se requiere una rigurosa evaluación con el fin de conocer el efecto de los extractos sobre el patógeno. Existen cerca de 500,000 especies de plantas, pero la actividad antimicrobiana de sus extractos ha sido estudiada sólo en unas pocas de ellas (De Lucca, Cleveland y Wedge, 2005). La mayoría de estudios que buscan identificar extractos o moléculas con un potencial efecto antimicrobiano se han concentrado en la variabilidad interespecífica, pero no en la variabilidad dentro de la especie (Ghosh, 2006).

Debido a esto se han generado el avance de alternativas tales como aceites esenciales y extractos vegetales, que son amigables con el medio ambiente y su uso es eficiente en el control de enfermedades, y su vez, con costos bajos que colaboran con las necesidades de los agricultores. Los extractos vegetales son una interesante alternativa a explorar, dónde investigaciones acerca de su actividad biológica han demostrado que son capaces de reemplazar con seguridad parcial o total a insecticidas y fungicidas sintéticos (Rodríguez, 2010).

En el presente trabajo se evaluó la actividad biológica de dos extractos vegetales (*Piper eripodon* y *Piper arthante*) en la cura y prevención de la enfermedad causada por *Fusarium oxysporum* en plántulas de gulupa. La información generada en este estudio se podrá utilizar como base para el manejo de enfermedades del cultivo junto con otros parámetros que serán tenidos en cuenta en el macroproyecto del cual hace parte el presente trabajo: “Ecofisiología, nutrición mineral y manejo integrado de plagas y enfermedades en aguacate, curuba, gulupa y tomate de árbol orientados hacia su manejo agronómico, como materia prima para el desarrollo de productos de interés comercial” el cual es un componente de la Red Nacional para la Bioprospección de Frutas Tropicales – RIFRUTBIO, (código 550854332012), financiada por Colciencias bajo el CONTRATO RC No. 0459-2013, y desarrollado por la Universidad Nacional de Colombia, la Universidad de Cartagena, la Universidad de Nariño y la Universidad de Cundinamarca.

## 2 MARCO TEÓRICO

### GULUPA

2.1 La gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) es una fruta originaria de Brasil, Paraguay y el norte de Argentina (Balaguera, *Et al* 2010). En Colombia, los cultivos de gulupa se encuentran ubicados entre los 1.800 y 2.400 msnm, en donde las mejores producciones se logran alrededor de la primera altitud. En cuanto a sus requerimientos edafoclimáticos se hace con referencia al cultivo de la granadilla (*Passiflora ligularis*) y con lo cual, la mayoría de ellos se aplican en términos prácticos para la gulupa; por esta razón se determina rangos que van desde 1.600 hasta 2.700 msnm, con temperaturas de 16 a 24°C y precipitaciones de 1.500 a 2.500 mm (Pinzón, Fischer, y Corredor, 2007).

En la actualidad en Colombia, la gulupa se encuentra el tercer renglón dentro de las frutas exportadas hacia el mercado europeo después del banano y la uchuva.(Pinzón *et al.*, 2007). En Colombia se registran en *Passifloraceae*, con 167 especies que se encuentran concentradas en la región andina, principalmente en los departamentos de Antioquia, Valle del Cauca, Cundinamarca, Quindío, Risaralda y Caldas (Pérez *et al.*, 2007). El área total sembrada con gulupa en 2013 en Colombia correspondió a 479,7 hectáreas, con una producción total de 6.303,6 toneladas. Los focos de producción de esta fruta son Antioquia con 36,9% de la producción nacional, Cundinamarca con 28,8%, Boyacá con 13,5%, Tolima con 9,3% y Huila con 4,1% (Empresarial, 2015), En relación a los rendimientos, los principales departamentos productores de gulupa, se observa que el mejor rendimiento se presenta en Antioquia con 31,2 ton/ha, seguido por Tolima con 15 ton/ha, y en el tercer lugar Boyacá con 11,1 ton/ha (Empresarial, 2015).



### 2.1.1 Descripción Morfológica

La gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) es una planta perenne, semileñosa, de tipo enredadera y de gran vigor vegetativo. Su estructura está determinada por el tallo principal del cual se derivan numerosas ramas laterales. Su sistema radicular de raíces laterales superficiales penetran hasta aproximadamente 45 cm del suelo; sus hojas pueden medir entre 4 y 11 cm de largo y entre 4 y 10 cm de ancho; sus flores son vistosas y surgen de las axilas de las hojas, son hermafroditas y con un diámetro de 6 a 8 cm; los zarcillos auxiliares son verde-amarillos dispuestos en forma de espiral con una longitud entre 30 y 40 cm y le permiten a la planta trepar (Ortiz Vallejo, 2010).

El tallo es sub angular, hueco, glabro, estriado y glauco. La base es leñosa y lignificada con diámetros que pueden llegar a medir hasta 7 cm, hacia el ápice de la planta la consistencia del tallo se hace más blanda y se presenta una disminución en el grosor. Cuando crecen de forma natural pueden alcanzar diez metros de alto, presentan un gran vigor vegetativo y crecimiento indeterminado. El hábito trepador de la planta está dado por zarcillos axilares verde-amarillos en forma de espiral con una longitud que varía entre 30 a 40 cm (Ortiz Vallejo, 2010).

Las hojas son alternas, simples, glabras y trilobuladas con bordes dentados, el limbo tiene una dimensión de 5 a 11 cm de largo por 4 a 10 cm de ancho y en la base presenta dos estipulas lineares (Morton, 1987). Los peciolo son glaucos y miden cerca de 5 cm (Ulmer, *Et al* 2004).

Las flores surgen en las axilas de las hojas, son solitarias, hermafroditas con un diámetro de 6-8 cm. Tienen tres sépalos oblongos, blancos en el interior y verdes hacia el lado externo y miden cerca de 3 cm. Los pétalos son cinco, presentan una longitud similar a la de los sépalos y son completamente blancos. La corona es purpura en el medio basal, blanca y ondulada en el medio superior. La parte masculina o androceo está formada por cinco estambres de grandes anteras con pesados granos de polen de color amarillo. El ovario es globoso, ovoide y presenta una densa pubescencia, es tricarpelar y su estigma tripartido esta sostenido por un estilo que puede adquirir diferentes curvaturas que afectan la posición del estigma

con respecto a la de las anteras. Este fenómeno ha dado origen a tres tipos de flores en la gulupa en las cuales varía la capacidad de autofecundación o de polinización cruzada (Ortiz Vallejo, 2010).

El fruto es una baya, su forma es ovoide y su diámetro fluctúa entre 4-6 cm, la corteza es de consistencia dura y lisa, en el estado inmaduro presenta un color verde pero adquiere un color morado con el desarrollo de los procesos fisiológicos que conducen a la madurez del fruto. El arilo presenta un color anaranjado y es muy apetecido por sus características organolépticas de sabor y aroma, posee abundantes semillas (150) de forma ovoide-aplanada que miden alrededor de 0,6 x 0,4 cm (Serrano y Quevedo García, 1989)



Figura 1. Plántulas de Gulupa utilizadas en el ensayo (*Passiflora edulis* Sims) (Ortiz Vallejo, 2010).

**Clasificación Taxonómica:** A continuación se presenta la clasificación taxonómica de acuerdo con Ortiz, (2010)

REINO: Plantae

DIVISION: Magnoliophyta

ORDEN: Violales

FAMILIA: Passifloraceae

GENERO: *Passiflora*

ESPECIE: *Passiflora edulis* Sims

### **2.1.2 Enfermedades en Gulupa (*Passiflora edulis* Sims)**

Las enfermedades son factor importante que determina la producción de los cultivos, generando un detrimento tanto en el rendimiento y la calidad de los frutos en la cosecha y poscosecha (Ocampo y Wyckhuys, 2012). Uno de los principales factores a considerar para esta tendencia es el efecto debido a la presencia de enfermedades. Entre las enfermedades registradas en la región del Sumapaz (Colombia) se mencionan bacteriosis (*Xanthomonas axonopodis* y *Stenotrophomona smaltophilia*) (Benítez y Hoyos-Carvajal, 2010), virosis (SMV, CMV, CABMV)(Camelo, 2010), roña (*Cladosporium cladoporioides sensu lato*) (E Ortiz *et al.*, 2010), enfermedades por nematodos (*Meloidogyne sp.*) (Moya y García, 2010), marchitez por *Fusarium* (*F. oxysporum*) y pudrición del cuello (*F. solani*) (Ortiz, 2012). Esta última es una de las enfermedades más importantes para el cultivo de gulupa.

#### **2.1.2.1 MARCHITEZ CAUSADA POR *Fusarium oxysporum***

*Fusarium oxysporum* es una de las especies de mayor importancia fitopatológica, una de las que cuenta con mayor número de plantas hospedantes y una de las especies que mayor daño económico ocasiona entre los patógenos de plantas. Esta especie genera diferentes daños en distintos cultivos agrícolas y ocasiona principalmente marchitamientos vasculares, conllevando la muerte de la planta (Torres, 2000). El hongo se caracteriza por producir colonias de crecimiento rápido y tres tipos de esporas: microconidias, macroconidias y clamidosporas.

##### **a. Interacción *Fusarium*-planta**

Los hongos del género *Fusarium* son ampliamente conocidos alrededor del mundo, por lo que lo convierte en un hongo cosmopolita y lo que genera un problema serio ya que producen metabolitos tóxicos que presenta detrimentos en la salud humana

y en los animales. Además, incluye muchos patógenos de plantas de importancia agrícola que en conjunto ocasionan enfermedades caracterizadas por marchitez, tizones, pudriciones en cultivos ornamentales y forestales en ecosistemas agrícolas y naturales. Como otros fitopatógenos, este hongo emplea diversas estrategias de infección, así también, la especificidad del hospedero depende de cada especie de *Fusarium*. El hongo puede sobrevivir en el suelo como micelio y en dormancia como esclerocios, y si se encuentra cerca una planta hospedera, la infección puede iniciar en las raíces, en partes de la planta por encima del suelo, a través del aire o el agua (Duarte, *Et al*, 2013). Para que la infección se genere en la planta, la interacción entre hongo-planta responde a un proceso donde se deben movilizar diferentes conjuntos de genes para la señalización temprana del hospedero, la adhesión a la superficie de este, la descomposición enzimática de barreras físicas, la defensa contra los compuestos antifúngicos del anfitrión, y la inactivación y la muerte de las células de hospedero por micotoxinas segregadas. (Revisado por Villa-Martínez *et al.*, 2015).

#### **b. Sintomatología de *Fusarium***

En plántulas jóvenes se produce amarillamiento de las hojas bajas las cuales rápidamente caen produciéndose defoliación severa de la planta simultáneamente se observan tasas de crecimiento menores en las plántulas enfermas y en menor tiempo, comparado con las plantas adultas, ocurre la muerte (Agrios, 2005).

En plantas en etapas adultas, en estados iniciales de infección, empieza a observarse clorosis de las hojas jóvenes, mientras que las hojas más viejas presentan epinastia o decaimiento; gradualmente, la deshidratación se va haciendo más severa, afectando cada vez un mayor número de hojas y ramas hasta que toda la planta se observa totalmente marchita, sus frutos deshidratados no alcanzan la madurez, el número de flores disminuye considerablemente y en algunos casos es posible observar la formación de abundante micelio al interior del tallo (Agrios, 2005; Cruz-Aguilar, Hoyos-Carvajal, y Melgarejo, 2012).



Martínez *et al.*, 2015). Adicionalmente producen micotoxinas tales como zearalenona, fusarinas, tricotecenos y fumonisinas las cuales pueden ser tóxicas para animales y general detrimentos en la salud humana (Desjardins, *Et al*, 2000).

#### **e. Alternativas de control de *Fusarium***

El control de las enfermedades causadas por hongos se ha basado principalmente en el uso de fungicidas sintéticos, con efectos nocivos para seres humanos y ambiente; debido a esto, se ha propuesto la utilización de otras alternativas solas o combinadas: aplicación de irradiaciones y el uso de antagonistas y compuestos naturales como los extractos y aceites esenciales, que han venido mostrando resultados prometedores (Guédez *et al.*, 2014). Al respecto, Necha y Barrera, (2009), sostienen que existe la necesidad de reducir el uso de químicos sintéticos en la agricultura e incrementar el uso de alternativas naturales, entre ellas la utilización de aceites esenciales para el control de fitopatógenos.

Existen diversas técnicas de control químico de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* Gutiérrez (1991), menciona que en una cama de producción con síntomas de esta enfermedad deben hacerse aplicaciones de formaldehído 50% para evitar contagio. El mismo autor menciona otros tratamientos a base de dazomet, Methan sodio, metil isotiocianato, además de la aplicación de fungicidas sistémicos como benomyl, Thiabendazol, Carbendazim y metilthiofanato, tomado de (Ancurio, 2010).

Un ejemplo de moléculas utilizadas para control de *Fusarium* son los benzimidazoles, dicho grupo se convierten en metil benzimidazol carbamato (MBC, carbendazim) en la superficie de las plantas, el cual interfiere en la división nuclear de los hongos. El género *Fusarium* es sensible a benomyl; sin embargo, es probable que este fungicida sea un agente mutagénico, que pudiera incrementar el grado de resistencia de los patógenos ante su efecto. Por su parte, el captán inhibe la síntesis de los compuestos que tienen los grupos  $-NH_2$  y  $-SH$  (aminoácidos y enzimas) (Agrios, 2006).

La necesidad de reducir el uso de químicos sintéticos en la agricultura ha incrementado el interés por la posible aplicación de aceites esenciales para el control de fitopatógenos. Diversos autores han reportado la actividad antifúngica de los aceites esenciales y sus compuestos: (Mueller-Riebau, *Et al*, 1995). En otro estudio (Velluti, Sanchis, Ramos, Egido, y Marí, 2003) probaron los aceites esenciales de clavo, canela y orégano sobre *Fusarium proliferatum*, los cuales inhibieron el crecimiento de este hongo (Necha y Barrera, 2009).

## **ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LA FAMILIA PIPERACEAE**

### **2.2 2.2.1 Definición y generalidades**

Tradicionalmente las especies del género *Piper* han sido utilizadas como condimento y en la medicina tradicional. En los últimos 40 años se han empezado a realizar estudios sobre la diversidad de sus compuestos químicos así como la variada actividad biológica de las especies del género (Caceres y Kato, 2014). Debido a esta actividad biológica los productos naturales obtenidos de plantas como las del género *Piper* se presentan como una alternativa amigable con el medio ambiente para ser usados en el control de plagas, malezas y enfermedades, ya que los productos actuales de síntesis química tienen problemas como lenta degradación, fitotoxicidad, citotoxicidad, carcinogenicidad y contaminación ambiental (Prieto, *Et al*, 2013). Debido a que las plantas, principalmente las silvestres, sintetizan metabolitos secundarios como mecanismo de defensa (Harbone, 1997), la aplicación de productos derivados de las plantas como extractos vegetales y aceites esenciales puede generar un efecto inhibitorio sobre las malezas, plagas y enfermedades que afectan a los cultivos (Prieto *et al.*, 2013).

El metabolismo secundario compromete aquellos procesos químicos que son únicos para una planta dada y no son universales. Dicho metabolismo es la química que conduce a la formación de un producto natural. Algunas porciones de esta química son comunes para un número de plantas diferentes o familias de plantas, pero actualmente la química de los metabolitos secundarios es usualmente diferente de una planta a otra, pues precursores químicos comunes pueden

conducir a resultados totalmente diferentes (Torres, 2004, Revisado por Lizcano y Vergara, 2008).

De las plantas se pueden extraer aceites esenciales los cuales son las fracciones líquidas volátiles responsables del aroma de las plantas, obtenidas por destilación por arrastre de vapor. Se usan principalmente en la industrias cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (saborizantes) (Cerutti y Neumayer, 2004). En los últimos años se han empezado a utilizar como biopesticidas.

El empleo de extractos vegetales para el control de plagas y enfermedades en el marco de una agricultura sostenible constituye una alternativa promisorio, debido a su elevada efectividad, bajo costo y no ser contaminantes del ambiente. Estos bioproductos se caracterizan por la presencia de determinados compuestos de origen natural, los cuales forman parte de las estrategias defensivas de las plantas y son agrupados en compuestos nitrogenados, fenólicos y terpenoides. Dichos compuestos le proporcionan importantes características a los extractos, como son anti apetitivos, antivirales, antimicrobianos o repelentes, que permiten su utilización para proteger los cultivos e incrementar la calidad y su producción alimentaria, ya que tienen la propiedad de ser menos tóxicos y más fácilmente degradables (Rodríguez, *Et al*, 2000).

Como se han venido estudiando los efectos de extractos vegetales en hongos fitopatógenos como lo reportaron (As y Je, 2002) quienes realizaron la evaluación de extractos etanólicos crudos a partir de diferentes partes de las plantas pertenecientes a trece familias, entre las que se encontraba la familia *Piperaceae*. Diferentes concentraciones de estos extractos se estudiaron bajo condiciones *in vitro* y se midió el efecto de la actividad antifúngica contra *Mycosphaerella fijiensis*, causante de la sigatoka negra en plátanos y bananos. De veinte extractos etanólicos, solo los de ocho especies (*Commelina difussa*, *Momordica charantia*, *Pavonea sp.*, *Plenas sp.*, *Sida rhombifolia*, *Syzygium aromaticum*, *Piper hispidum* y *Piper peltatum*) mostraron actividad antifúngica, tanto en germinación de esporas



como en desarrollo de colonias de *M. fijiensis*, y en algunos casos eran más efectivos que el fungicida comercial propiconazole, por lo que estos extractos fueron rotulados como promisorios. El fraccionamiento de estos extractos crudos mediante diclorometano reveló que los constituyentes antifúngicos activos en la planta son encontrados en una u otra de las fracciones analizadas. Estos resultados podrían permitir aislar estos compuestos para utilizarlos como sustancias promisorias para el control de la sigatoka negra (citado por por Celis *et al.*, 2008).

### 3 OBJETIVOS

#### OBJETIVO GENERAL

3.1 Evaluar la actividad biológica de dos extractos vegetales (*Piper arthante* y *Piper eriopodon*) para el control de fusariosis (*Fusarium oxysporum*) en las plántulas de Gulupa (*Passiflora edulis* Sims), bajo condiciones controladas *in vivo*.

#### 3.1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto preventivo y curativo de cada extracto vegetal utilizando tres dosis distintas.
- Determinar el porcentaje de incidencia de la fusariosis (*Fusarium oxysporum*) en plántulas de Gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) tratadas con dos extractos vegetales.
- Evaluar el porcentaje de eficacia de los tratamientos utilizados por cada extracto vegetal.

## 4 MATERIALES Y MÉTODOS

### UBICACIÓN Y CARACTERÍSTICAS AGRO CLIMATOLÓGICAS:

- El proyecto se llevó a cabo principalmente, en una casa de malla de la universidad de
- 4.1 Cundinamarca, sede Fusagasugá, la cual presenta una temperatura diurna promedio de 20°C y una humedad relativa de 85%.

### MATERIALES Y EQUIPOS

4.2

#### 4.2.1 Equipos

Percolador, Rotavapor, Balanza analítica, Cámara de flujo laminar, Destilador, Molino eléctrico, Autoclave; Termohigrometro, Cámara de Neubauer, Cámara fotográfica, Microscopio, Incubadora.

#### 4.2.2 Materiales

- Plántulas de gulupa, Sustrato fibra de coco; Hojas de *Piper eripodon*; Inflorescencias de *Piper arthante*, Cajas de Petri, Asas rectas, Erlenmeyer, Vasos
- 4.3 de 16 Oz.

### COLECTA DE MATERIAL VEGETAL (Plantas del género *Piper*)

El material vegetal de cada una de las especies utilizadas para la elaboración de los extractos vegetales se recolectó en la región del Sumapaz (Cundinamarca). Se determinó trabajar con *Piper arthante* y *Piper eripodon* ya que estos extractos presentaron mayor actividad biológica en condiciones *in vitro* luego de un *screening* de más de 30 de extractos vegetales de especies promisorias.

*Piper eripodon*: Se colectaron hojas de plantas presentes en las veredas de Santa Lucía (Fusagasugá) y base del cerro Quininí, vereda Albania (Tibacuy).

*Piper arthante*: Se recolectaron inflorescencias de la especie, provenientes del bosque de robles del cerro Quininí (Tibacuy) y del jardín de *Piperaceae* presente en la Granja La Esperanza (vereda Guavio), perteneciente a la universidad de Cundinamarca, sede: Fusagasugá.

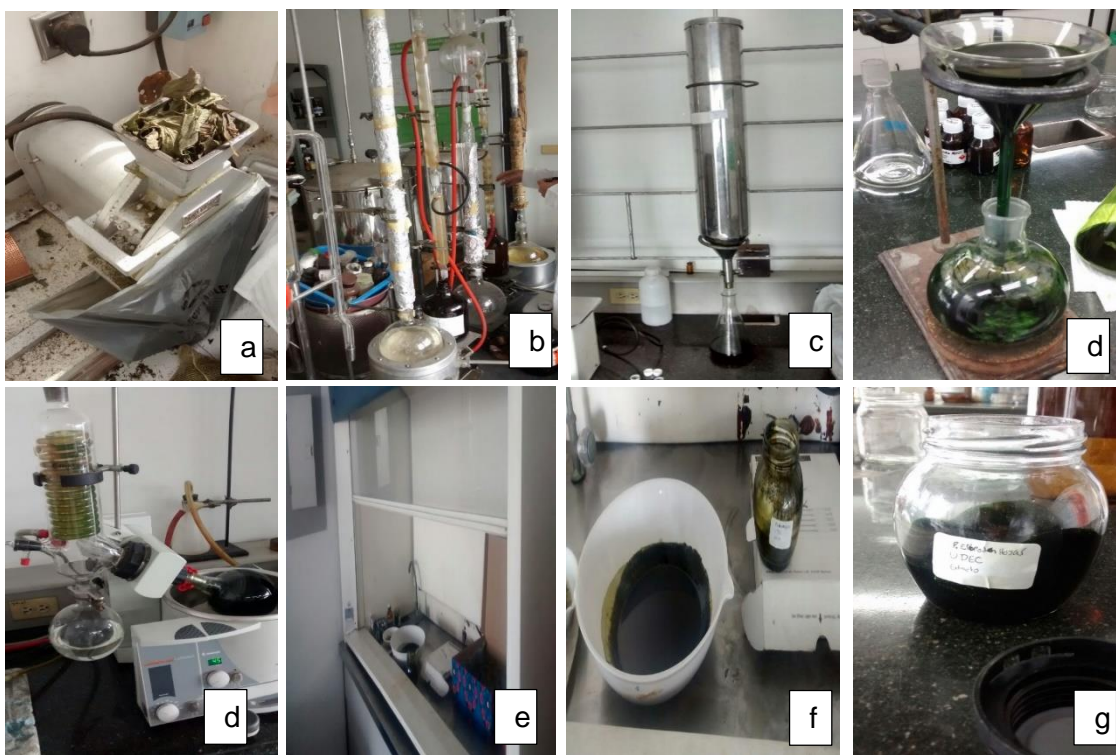


**Figura 3. Recolección del material vegetal de las plantas *Piper eriopodon* y *Piper arthante*.** A,B,: Colecta de *Piper arthante* (granja la esperanza, Guavio Bajo – Fusagasugá), C, Planta *Piper eriopodon* , D: Inflorescencia *Piper arthante*, E: Colecta hojas *Piper eriopodon* (Santa Lucía – Fusagasugá, Albania - Tibacuy), F: Planta *Piper arthante*.

## OBTENCIÓN EXTRACTOS VEGETALES

La obtención de los extractos vegetales de *Piper eriopodon* y *Piper arthante* se llevó a cabo en el Laboratorio de Productos Naturales Vegetales del Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. La preparación de los extractos se elaboró por el método de percolación según Chattopadhyay *et al.* (2005), la secuencia de pasos fue la siguiente:

Pulverización de 2 Kg de material vegetal seco (hojas) de *Piper eripodon* en molino eléctrico, posteriormente se llevó el material pulverizado al percolador para obtener los principios activos de *P. eripodon*; mediante la destilación se obtuvo etanol al 70%, utilizado como solvente para el proceso de percolación, se dejó a temperatura ambiente, se mantuvo durante 48 horas en el percolador. Posteriormente fue filtrado para no dejar pequeñas partículas de hojas en el matraz evaporador que será concentrado por medio del rotavapor; evaporara mediante una combinación de temperatura provista por un baño calefactor y la generación de presión de vacío y también el proceso de rotación para que no genere una ebullición en la concentración del extracto, posteriormente se vierte el extracto concentrado en una cápsula de porcelana que se dejará a temperatura ambiente para ser secado.



**Figura 4. Elaboración del extracto de *P. eripodon*.**

**a) Molino eléctrico, b) Destilación de etanol c) Percolador d) Filtración del extracto, e) Concentración en rotavapor, f) Cámara de secado g) Cápsula con extracto h) Extracto de *P. eripodon*.**

En cuanto a la obtención de extracto de *Piper arthante* se colocaron 150 gramos de inflorescencias secas en un Erlenmeyer con etanol al 70% por 48 horas, con el fin de generar el mismo principio del percolador, posteriormente se filtró con un embudo de vidrio en el matraz evaporador que se llevó al rotavapor para ser concentrado por medio de la presión de vacío y el baño calefactor, que a su vez fue secado posteriormente a temperatura ambiente.



Figura 5. Elaboración de extractos de *P. arthante*.

a) Inflorescencias *P. arthante*, b) Inflorescencias sumergidas en etanol 70%, c) Filtración del extracto, d) Concentración en rotavapor, e) Extracto concentrado de *P. arthante*.

## PREPARACIÓN DE MATERIAL VEGETAL (Gulupa)

### 4.5.1 Protocolo de germinación

Se realizó la desinfección de 250 semillas de Gulupa con Hipoclorito al 2% y dos gotas de Tween 20 ® durante 10 minutos, posteriormente se realizaron tres

enjuagues con agua destilada estéril (ADE) durante 5, 10 y 15 minutos consecutivamente. Se colocaron 50 semillas por caja de Petri sobre un papel filtro estéril humedecido previamente con 5 ml de ADE. Las cajas se sellaron con parafilm, se taparon con papel aluminio. Las semillas se sometieron a una temperatura de 4°C durante 15 días. Transcurrido el tiempo las semillas se colocaron en oscuridad total a una temperatura promedio de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ .



**Figura 6. Tratamiento pre germinativo semillas de Gulupa.**

A: Semillas estériles, B: Materiales desinfección cámara de flujo laminar, C: Contenedores para enjuagues y D: Producto final.

#### **4.5.2 Siembra de plántulas**

La siembra se llevó a cabo en el invernadero de la facultad de agronomía de la universidad de Cundinamarca, sede Fusagasugá.; Se sembraron 250 semillas de gulupa pregerminadas en bandejas de propagación a 0,5 cm de profundidad; utilizando como sustrato fibra de coco estéril. Al paso de 20 días se trasladaron en vasos de 16 Oz con bolsas plásticas en el exterior para controlar humedad. El riego se proporcionó cada 4 días con regaderas plásticas. La fertilización se hizo con Triple 15 (5 ml/ pl) dos veces a los 30 y 40 DDS (días después de la siembra); Las pruebas se realizaron hasta 90 DDS.



Figura 7. Siembra y establecimiento de los tratamientos, Invernadero universidad de Cundinamarca, sede Fusagasugá.

### REPIQUES DE CEPA DE *Fusarium oxysporum*

La cepa del hongo *Fusarium oxysporum* f sp *Passiflorae* ha sido aislada, identificada molecularmente y fue proporcionada por el laboratorio de Productos Naturales Vegetales del departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. La cepa se repicó en 15 cajas de medio PDA (15 ml/caja de petri) con un asa recta estéril pinchando una cantidad de micelio del hongo en el centro de cada caja de Petri, posteriormente se llevaron a la incubadora por 8 días a una temperatura de 25°C. Se obtuvieron 15 cajas de Petri con el hongo *Fusarium oxysporum* en cultivo puro.



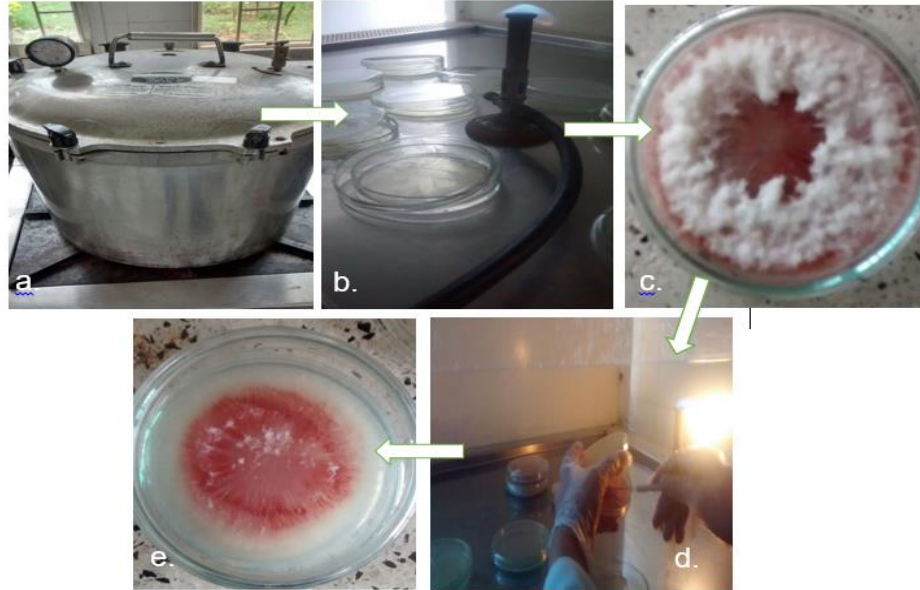
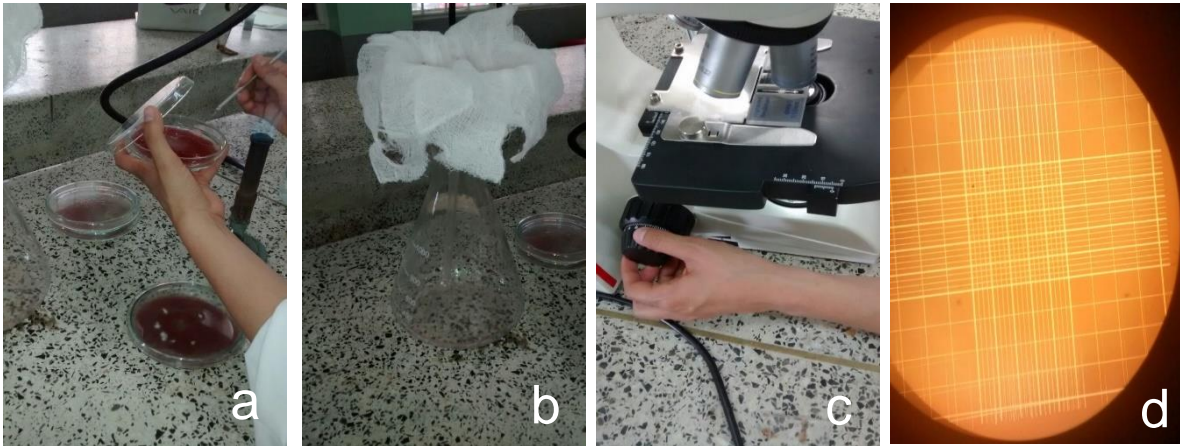


Figura 8 Repique de hongo. a) Autoclave, b) Medio PDA, c) Hongo *F. Oxysporum*, d) Repique, e) Hongo repicado.

#### 4.7 PREPARACIÓN DEL INÓCULO

Para la preparación del inóculo se esterilizaron todos los materiales en el autoclave, posteriormente se agregó agua destilada estéril a los incrementos del hongo en las cajas petri, seguido se procedió a raspar la superficie del medio con una espátula estéril o asa redonda para desprender las conidias. La solución se filtró con gasa estéril en un embudo. La concentración de la solución obtenida se midió con la cámara de Neubauer (Figura 9).



**Figura 9. Preparación de inóculo. a) Raspado de caja de petri, b) Filtración, c) Conteo de esporas en el microscopio, d) Cuadrícula cámara de Neubauer.**

Se preparó un inóculo a una concentración de  $1 \times 10^7$ . Se prepararon 10 ml de inóculo por planta, para un total de 1300 ml/ensayo, el promedio de conidias obtenido en 3 conteos fue 235 conidias, como se evidencia en la tabla 1.

**Tabla 1. Promedio conteo conidias Fusariosis en cámara de Neubauer.**

<b>CONTEO EN CÁMARA DE NEUBAUER</b>			
<b># Cuadros</b>	<b>Conteo # 1</b>	<b>Conteo # 2</b>	<b>Conteo # 3</b>
1	30	49	68
2	59	45	54
3	43	36	47
4	60	32	37
5	55	35	55
<b>TOTAL:</b>	<b>247 conidias</b>	<b>197 conidias</b>	<b>261 conidias</b>
<b>Promedio:</b>	<b>235 conidias.</b>		

Cálculos:

$$235 \times 50.0000 = 11750000$$

Las conidias contadas se multiplican por 50000, la concentración del patógeno debe ser  $1 \times 10^6$  y se necesitan 1300 ml de solución. Por lo tanto se obtuvo la siguiente fórmula:

$$V_1 \times 11750000 = 1300 \text{ ml} \times 1 \times 10^6$$

Por tanto, DESPEJADA:

$$V_1 = \frac{1300 \text{ ml} \times 1 \times 10^6}{11750000} = 110.6 \text{ ml.}$$

Se tomaron 110.6 ml del inóculo inicial y se completó hasta 1300 ml con agua destilada estéril para obtener la concentración final deseada. Se procedió a aplicar 10 ml/planta en todos los tratamientos en plantas con previas heridas en las raíces. Para la segunda parte del ensayo se contó un promedio de 210 conidias/ml, por ende, se concentró 38 ml de inóculo en 362 ml de agua destilada estéril, para las 40 plantas utilizadas en esta parte del ensayo.

### PREPARACIÓN SOLUCIONES DE EXTRACTOS DE *Piper*

Esta parte del trabajo se llevó a cabo en la sede Fusagasugá de la universidad de Cundinamarca, en las instalaciones de una casa de malla, con una temperatura promedio 20°C y humedad relativa del 85%.

La concentración mínima inhibitoria (CMI) fue determinada por el laboratorio de química de la Universidad Nacional de Colombia. Partiendo de la CMI establecida para los extractos de *Piper eriopodon* 30 mg/ml y *Piper arthante* 3,7 mg/ml, se establecieron dos dosis distintas, una dosis concentrada al 150% y una dosis diluida al 50% como se muestra en la tabla 3. Los extractos se disolvieron en 1 ml de etanol y se prepararon dos soluciones stock de 200 ml, a partir de las cuales se hicieron las diluciones correspondientes para obtener las concentraciones indicadas.

**Tabla 2 Concentraciones aplicadas en el ensayo por extracto**

EXTRACTOS VEGETALES	CONCENTRACIÓN		
	BAJA (50%)	MEDIA(CMI)	ALTA (150%)
<i>Piper eriopodon</i>	15 mg/ml	30 mg/ml	45 mg/ml
<i>Piper arthante</i>	1,85 mg/ml	3,7 mg/ml	5,5 mg/ml



Figura 10. Soluciones disueltas. *Piper arthante* (izq.), *Piper eriopodon* (der.)

En la segunda parte del ensayo se repitió el proceso a 10 plantas de los 3 mejores tratamientos y el testigo inoculado. Los tratamientos fueron: *Piper arthante* a dosis alta 5,5 mg/ml, *Piper arthante* a CMI 3,7 mg/ml y *Piper eriopodon* a CMI 30 mg/ml.

#### ■ **APLICACIÓN PREVENTIVA-CURATIVA EXTRACTOS VEGETALES *Piper arthante* Y *Piper eriopodon*.**

En total se realizaron 13 tratamientos (Tabla 3). Por cada extracto evaluado se hicieron 6 tratamientos, 3 preventivos y 3 curativos.

Las heridas se realizaron haciendo cortes en las puntas de las raíces secundarias con tijeras flameadas. Estas heridas sirven para permitir la entrada del patógeno a la planta.

Para el tratamiento preventivo se aplicaron 10 ml de cada extracto directamente al sustrato de las plantas 7 días previos a la inoculación del patógeno. El tratamiento curativo se aplicó 10 ml de cada extracto un día después de la inoculación del patógeno.



Figura 11. Procedimiento inoculación patógeno en plántulas de Gulupa

## MÉTODO DE ANÁLISIS

4.10 El método de análisis se realizó por medio de la toma de datos para evaluar el porcentaje de severidad, incidencia, eficacia del producto y tasa de mortalidad de la enfermedad en cada uno de los tratamientos. Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con 14 tratamientos y diez repeticiones, el cual se analizó por medio del software estadístico InfoStat versión 2008.

**Tabla 3 Descripción de tratamientos y diseño experimental**

T0 Control positivo	T1 Preventivo P.a. Dosis baja	T2 Preventivo P.a. Dosis media	T3 Preventivo P.a. Dosis alta	T4 Preventivo P.e. Dosis baja	T5 Preventivo P.e. Dosis media	T6 Preventivo P.e. Dosis alta
T0 Control negativo	T7 Curativo P.a. Dosis baja	T8 Curativo P.a. Dosis media	T9 Curativo P.a. Dosis alta	T10 Curativo P.e. Dosis baja	T11 Curativo P.e. Dosis media	T12 Curativo P.e. Dosis alta

### Especificaciones campo experimental:

A: Numero de tratamientos: 14

B: Numero de repeticiones: 10

C: Número total de unidades experimentales: 140

D: Tamaño de la unidad experimental: 140 plantas



Figura 12 Repartición tratamientos en invernadero

#### 4.10.1 METODOLOGÍA DE MUESTREO

El muestreo se realizó 2 veces por semana evaluando la totalidad de plantas de cada tratamiento, se observan los síntomas asociados a marchitamientos causados por fusariosis de acuerdo a las siguientes variables:

#### 4.10.2 VARIABLES DE EVALUACIÓN

**a. Grado de severidad:**

Se determinó con la escala visual evidenciada a continuación (Agris, 1998):






**Tabla 4 Escala de severidad (Agris, 1998).**

ESCALA DE SEVERIDAD		
NIVEL	PORCENTAJE	SINTOMAS
0	0	Planta sana
1	0 – 10	Leves
2	10 – 50	Severos
3	50 – 75	Muy severos
4	>75	Planta muerta

Para calcular la afectación por tratamiento se utilizó la fórmula basada en los 5 niveles de severidad de la escala, como se evidencia, a continuación:

$$\% \text{ Afectaci} = \left( \frac{(Total^{\circ 0} * 0) + (Total^{\circ 1} * 1) + (Total^{\circ 2} * 2) + (Total^{\circ 3} * 3) + (Total^{\circ 4} * 4)}{^{\circ 4} * Total \text{ plantas}} \right) \times 100$$

**Tabla 5 grados de severidad establecidos en plántulas de Gulupa**

GRADO 0	GRADO 1	GRADO 2	GRADO 3	GRADO 4
PLANTA SANA	0-10% DAÑO	10- 50% DAÑO	50 – 75% DAÑO	PLANTA MUERTA
				

**b. Porcentaje de Eficacia:**

Se utilizó la fórmula de Abbot, para determinar la eficacia de las aplicaciones:

$$\% \text{ Eficacia} = \left( \frac{\% \text{ Incidencia testigo} - \% \text{ Incidencia tratamiento}}{\% \text{ Incidencia testigo}} \right) \times 100$$

**c. Porcentaje de Incidencia:**

La incidencia de la fusariosis se calculó con la fórmula de Van der Plank (1975):

$$I = (PE / PT) \times 100$$

Donde, I = índice de incidencia (%), PE= número de plantas afectadas, PT= número total de plantas.

**d. Porcentaje de mortalidad:**

Se calculó sobre el número total de plantas muertas a lo largo del experimento sobre el número total de plantas establecidas, dada en porcentaje.

$$M = (PM / PT) \times 100$$

Donde, M = índice de mortalidad (%), PE= número de plantas muertas, PT= número total de plantas.

**e. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad:** Con el fin de observar el progreso de la enfermedad a través del tiempo, se calculó el área bajo la curva de progreso de la enfermedad, usando la fórmula:

- $$\text{AUDCP} = \sum_{i=1}^{n-1} \left( \frac{Y_i + Y_{i+1}}{2} \right) (T_{i+1} - T_i)$$

Donde:

$Y_i$  = Proporción de la enfermedad a la  $i$ -ésima observación

$T_i$  = Tiempo en la  $i$ -ésima observación

$n$  = Número total de observaciones

El ABCPE es adimensional



## 5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta investigación se realizó un análisis de la actividad biológica de dos extractos vegetales de las especies *Piper arthante* y *Piper eriopodon* para el control de *Fusarium oxysporum* en plántulas de Gulupa. Se analizó el efecto preventivo y curativo de cada extracto sobre la enfermedad. Las variables evaluadas fueron: Porcentaje de incidencia, porcentaje de severidad, porcentaje de mortalidad, área bajo la curva del progreso de la enfermedad y porcentaje de eficacia. Se analizaron tres dosis diferentes por cada extracto basados en la concentración mínima inhibitoria obtenida por el equipo de trabajo del laboratorio de Productos Naturales Vegetales del Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia (datos sin publicar). El diseño experimental se ejecutó con un total de catorce tratamientos y diez repeticiones.

### 5.1

#### **TRATAMIENTO PREVENTIVO Y CURATIVO DEL EXTRACTO VEGETAL DE *Piper arthante* PARA EL CONTROL DE LA ENFERMEDAD.**

Como se describió en el apartado anterior, se evaluaron tres dosis del extracto en forma preventiva. Los resultados de los tratamientos se muestran en la Figura 13. Como se puede observar, los tratamientos que presentaron el menor porcentaje de incidencia de *Fusarium oxysporum*, fueron los tratamientos preventivos a concentración alta (5,5 mg/ml) y media (3,7 mg/ml) con valores del 30% cada uno diferenciándose del control positivo y el tratamiento preventivo a concentración baja, los cuales evidenciaron una incidencia de la enfermedad del 100% y 80%, respectivamente. El tratamiento control negativo mostro datos de 0% en todas las semanas, es decir, todas las plantas sanas.

De acuerdo al tiempo de incubación de la enfermedad que presentó el control positivo (Figura 14), se puede afirmar que en plántulas de Gulupa se alcanza el

100% de incidencia de *Fusarium oxysporum* a los 12 días después de la inoculación del patógeno, en la cual la temperatura y humedad relativa promedio fue de 19°C y 70% respectivamente. En cuanto a los tratamientos preventivos del extracto vegetal, a los 12 días posteriores a la inoculación de *Fusarium oxysporum* presentaban valores de incidencia de 10, 0 y 30%, para las concentraciones altas, media y baja. Es decir, que el extracto vegetal de *Piper arthante*, puede tener un efecto preventivo sobre la enfermedad. Al observar los resultados en el último muestreo (Figura 13), podemos afirmar que los mejores resultados de prevención de la enfermedad se obtuvieron con los tratamientos de concentración alta y media, debido a que la incidencia de la enfermedad luego de 30 días presentaba valores del 30% en ambos tratamientos. La dosificación interfiere en el control de las enfermedades, esto lo evidencio Moreno López, (2011), donde estudió la actividad antifúngica de los metabolitos secundarios mayoritarios encontrados en *Zanthoxylum monophyllum* y *Piper eriopodon*, como la berberina y gibbilimbol B, respectivamente, sobre *F. oxysporum f. sp. dianthi*, en clavel (*Dianthus caryophyllus*), por medio de la técnica de bioautografía en cromatografía en placa delgada (CCD), obteniendo como resultado un efecto antifungico del gibbilimbol B sobre el hongo con cantidades de 5, 10, 25, 50 y 100µg.

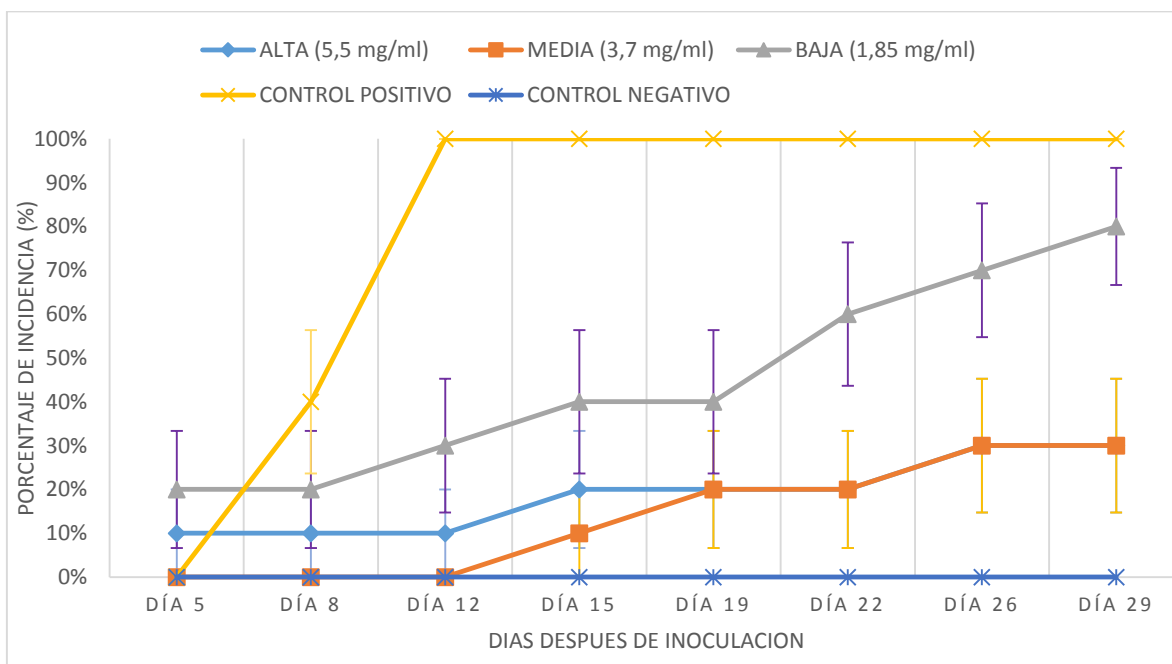


Figura 13. Porcentaje de incidencia de *Fusarium oxysporum*, tratamiento preventivo *Piper arthante*.

En general, los resultados muestran que el extracto vegetal de *Piper arthante* tiene un efecto preventivo sobre la enfermedad causada por *Fusarium oxysporum*. Los productos de origen vegetal han sido, en las últimas dos décadas, mayormente estudiados en su parte química, con énfasis en los metabolitos secundarios, los cuales están implicados en el control biológico contra patógenos o plagas, y en ciertos casos, activando procesos de defensa en la planta, brindando una protección preventiva. (Kagale, Marimuthu *et al.* 2004, revisado por Gonzalez 2007).

Por otra parte, Los resultado de incidencia de la enfermedad causada *Fusarium oxysporum* en el tratamiento curativo *Piper arthante* se evidencian en la (Figura N° 14), los datos obtenidos muestran la aparición de los primeros síntomas a partir de 5 DDI a concentración baja y alta, el control positivo y el tratamiento a concentración media presentaron los síntomas a los 8 DDI. La (Figura N° 14) demuestra los valores de incidencia de los tratamientos de *Piper arthante*, el tratamiento control positivo presento la mayor incidencia de la enfermedad con 100%, junto con los tratamientos curativos a concentración baja, media y alta, con 90%, 100% y 80% de incidencia consecutivamente. El tratamiento control positivo presento la mayor infección a partir de los 12 DDI. Ningún tratamiento presento diferencias significativas, siendo la aplicación curativa a concentración alta el que obtuvo el mayor control con 80%, es decir, tan solo se evidenció el control en un 20 % de la población evaluada. Esto indica que el manejo curativo de *Fusarium oxysporum* con extractos vegetales de la familia *piperácea* no es recomendable.

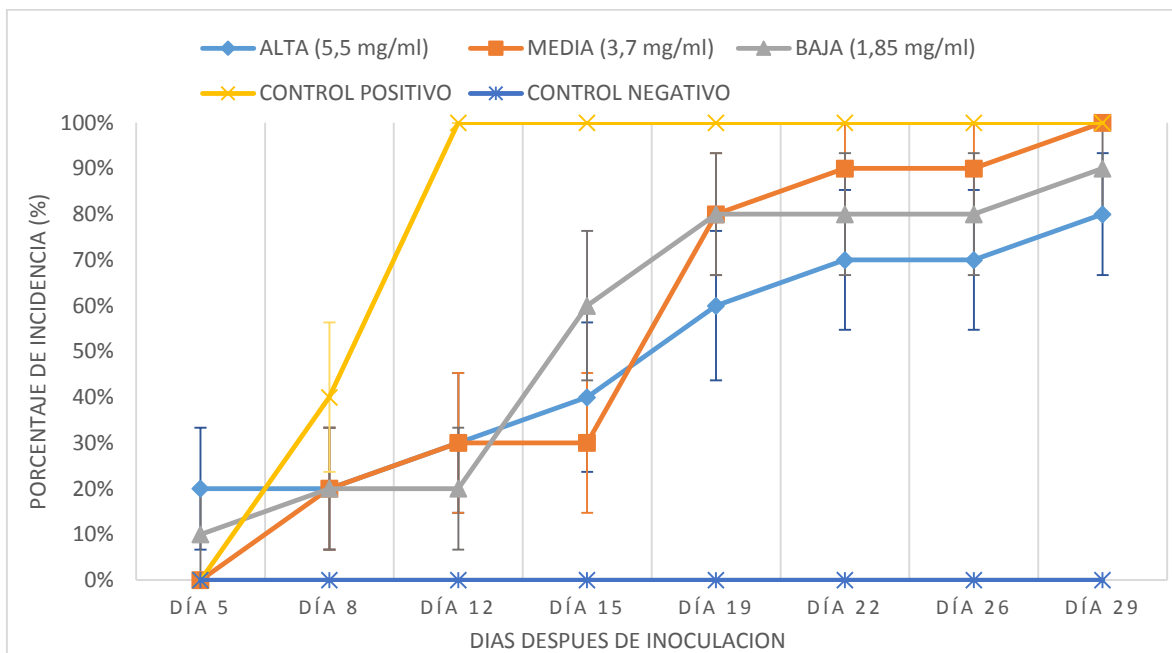


Figura 14. Porcentaje de incidencia de *Fusarium oxysporum*, tratamiento curativo *Piper arthante*.

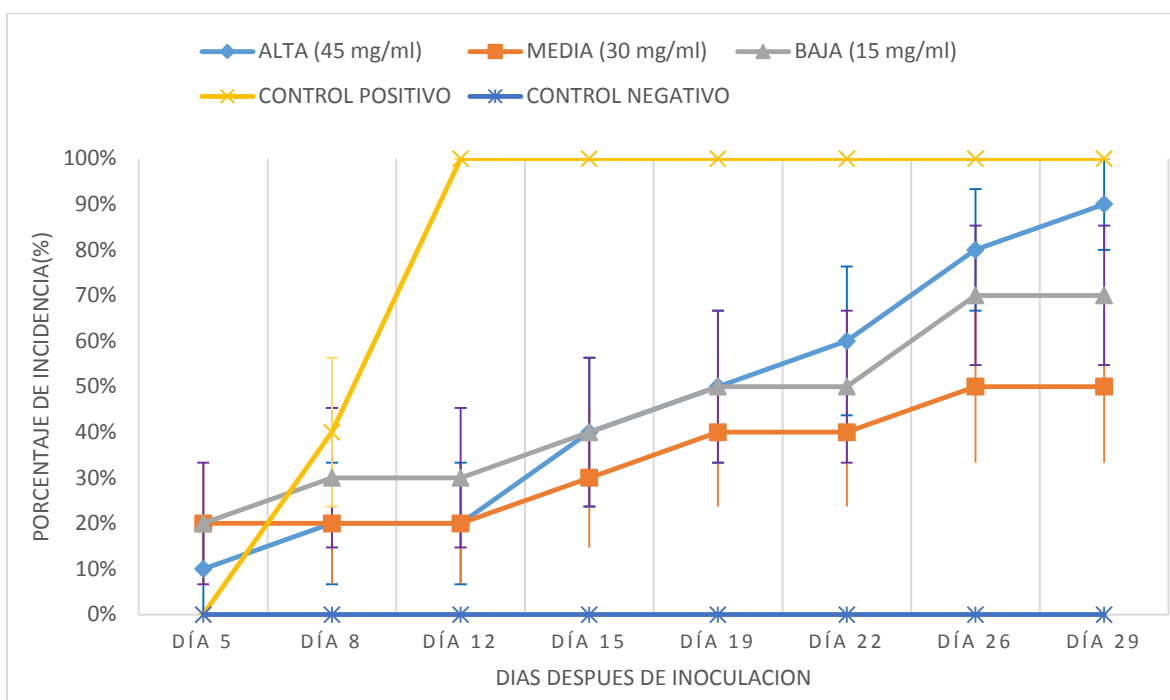
## 5.2 TRATAMIENTO PREVENTIVO Y CURATIVO DEL EXTRACTO VEGETAL DE *Piper eriopodon* PARA EL CONTROL DE LA ENFERMEDAD.

El efecto preventivo del extracto vegetal de *Piper eriopodon*, también se evaluó utilizando tres concentraciones distintas. En la Figura 15, se evidencia que los tratamientos preventivos se comportaron de la siguiente manera: Concentración alta y baja 90% y 70% de incidencia y el testigo absoluto (0%). La mayor actividad biológica se evidenció en el tratamiento *Piper eriopodon* a concentración media mostrando el 50% de su población con presencia de síntomas asociados a *Fusarium oxysporum*. Todos los tratamientos presentaron síntomas a partir de los 5 DDI y con respecto al control positivo presentaron menor porcentaje de incidencia en todas las concentraciones del ensayo, además se evidencia control a los 12 DDI en las tres dosis, a diferencia del control positivo que evidenció el 100% de incidencia a partir de ese día.

Para detectar diferencias significativas entre los tratamientos, se realizó un análisis de varianza (Anexo N° 1). En la mayoría de los tratamientos no se presentaron

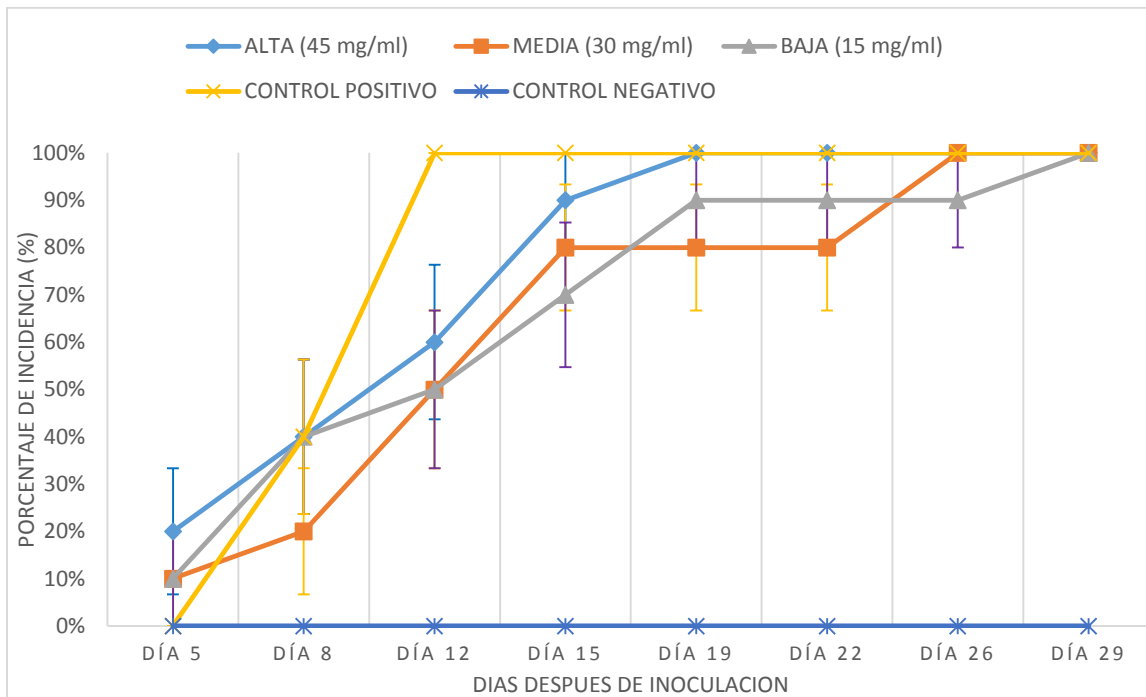
diferencias significativas. Sin embargo, hubo diferencias entre el testigo negativo y el efecto preventivo de *Piper arthante* a concentración media, presentando valores menores de incidencia en el ensayo. Adicionalmente, el efecto curativo de *Piper eriopodon* a concentración alta presentó los datos más altos en cuanto a la variable incidencia respecto a los demás tratamientos.

Los resultados demuestran que el efecto preventivo no se mantiene en el tiempo, por lo cual la frecuencia de aplicación debería ser más alta.



**Figura 15. Porcentaje de incidencia de *Fusarium oxysporum*, tratamiento preventivo *Piper eriopodon*.**

La aplicación del extracto de *Piper eriopodon* con fines curativos, no presentó control sobre *Fusarium oxysporum*. Los primeros síntomas aparecieron a los 5 DDI en todas las concentraciones aplicadas, el control positivo presentó los primeros síntomas a los 8 DDI. Todos los valores de incidencia son del 100% al día 29 DDI. Ningún tratamiento curativo del extracto *Piper eriopodon* presentó actividad biológica frente al hongo, además no se evidencian diferencias entre tratamientos.



**Figura 16. Porcentaje de incidencia de *Fusarium oxysporum*, tratamiento curativo *Piper eriopodon*.**

Un efecto alterno encontrado al tratamiento curativo *Piper eriopodon* a concentración 45 mg/ml, fueron síntomas de fitotoxicidad en el 50% de la población tratada (Figura 17). Estos resultados contrastan con los reportados por Moreno López (2011), en dicho estudio se realizaron dos pruebas de fitotoxicidad de los extractos por inmersión de los esquejes en los tratamientos y aplicación de los tratamientos al sustrato. En este trabajo se observó que por inmersión de los esquejes con los extractos de *P. eriopodon* y *Z. monophyllum* se presentaron más plantas con síntomas de toxicidad, en cambio con la aplicación al sustrato ninguno de los esquejes presentó síntomas de fitotoxicidad.

El comportamiento de las plantas mostrando efectos fitotoxicos al realizar la aplicación *Piper eriopodon* a concentración 45 mg/ml, no coincide con lo reportado por García *et al.* (2006), que al realizar la evaluación de la actividad antifúngica con los aceites esenciales obtenidos en plantas aromáticas, hizo la evaluación fitotóxica sobre plantas de tomate de árbol, mostrando que la aplicación sistemática y en altas

concentraciones no ocasionó ninguna lesión de las contempladas en las escalas de daño a las plantas evaluadas (Celis *et al.*, 2008).

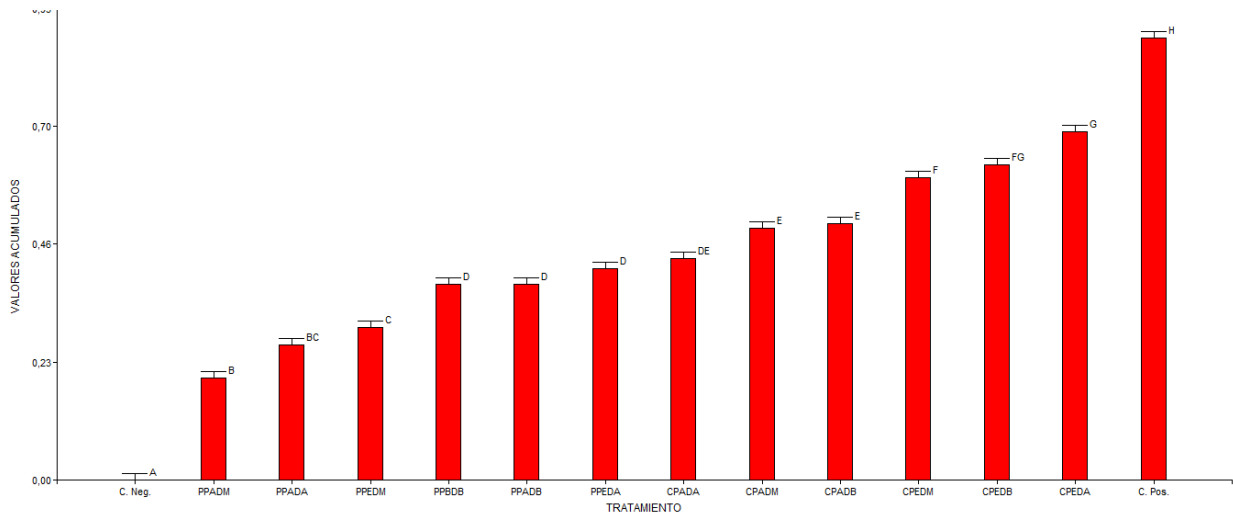
De acuerdo con Lampkin (2001) gran parte del efecto de los extractos de plantas sobre las enfermedades, más que deberse a algún tipo de toxicidad directa, se produce por el fortalecimiento estructural de la planta, incrementando su resistencia a la penetración de los micelios de los hongos y a las picaduras de insectos, o bien estimulando un desarrollo vigoroso para superar un ataque.



**Figura 17. Sintomatología asociada a fitotoxicidad causada por *Piper eriopodon* en plántulas de Gulupa.**

El análisis de varianza realizado para el área bajo la curva de progreso de la enfermedad se muestra en la Figura 18, allí se puede evidenciar que hay diferencias significativas a lo largo de la epidemia entre el control positivo con 80% de incidencia y todos los tratamientos restantes.

El tratamiento que evidencia los valores más bajos fue la función preventiva de *Piper arthante* a concentración 3,7 mg/ml y 5,5 mg/ml con valores de 18% y 25% respectivamente, seguido de la función preventiva de *Piper eriopodon* a concentración 30 mg/ml con 29%.



**Figura 18. Valores promedio de área bajo la curva de progreso de la enfermedad para la variable incidencia de la enfermedad (ABCPE es adimensional)**

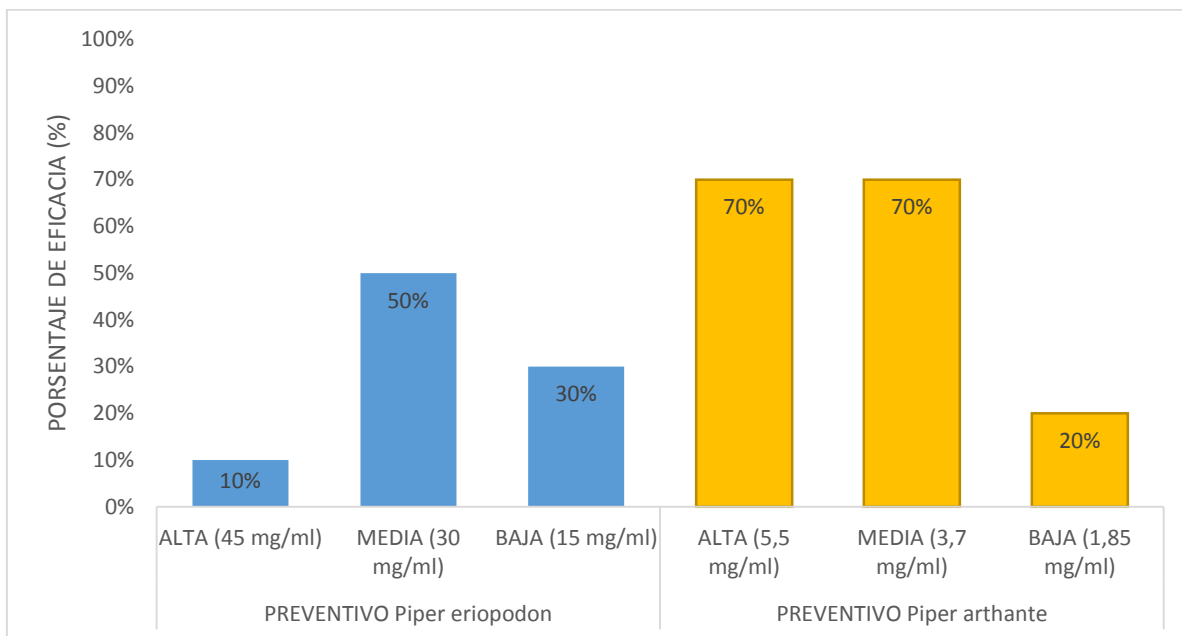
Los tratamientos en función curativa de *Piper arthante* presentaron valores entre 40 y 50% de incidencia. A demás, la función curativa de *Piper eriopodon* presento valores entre el 58 y 67% de porcentaje de incidencia, siendo los mas cercanos al control positivo.

### 5.3

#### **PORCENTAJE EFICACIA DE EXTRACTOS VEGETALES EN APLICACIÓN PREVENTIVA Y CURATIVA**

Con el fin de evaluar los dos extractos vegetales de la familia *Piperaceae*, se realizó un estudio comparativo de la eficacia biológica de los extractos vegetales sobre el control de *Fusarium oxysporum*.



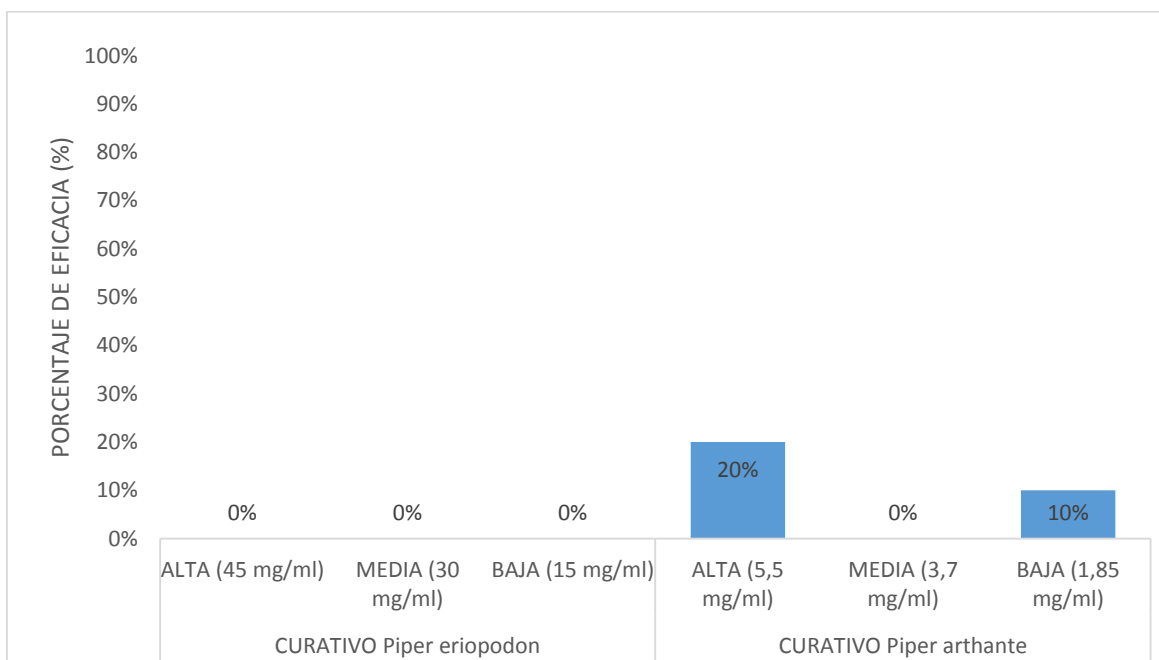


**Figura 19. Porcentaje Eficacia extractos vegetales aplicación preventiva.**

En la Figura 19 se observan los porcentajes de eficacia obtenidos en las aplicaciones preventivas. Los resultados evidencian que ambos extractos vegetales tienen un efecto preventivo contra la enfermedad. Sin embargo, el mayor porcentaje de eficacia se obtuvo con el extracto vegetal de *Piper arthante* a concentración alta y media con valores de 70% de eficacia, seguido de *Piper eriopodon* concentración media con 50%, los demás tratamientos evidencian datos entre el 10% al 30% de eficacia. La concentración baja de ambos extractos tiene un porcentaje de eficacia muy bajo sobre el control preventivo de la enfermedad. En otras palabras, los tratamientos se comportan diferente de acuerdo a la concentración del producto, esto se puede comparar con el estudio realizado por Ángel, Flórez, & González (2014), quienes evaluaron *in vivo* tres concentraciones del extracto de la cascara del mangostino (*Garcinia mangostana L*) en *Botrytis cinerea* en coliflor. Las concentraciones fueron 10, 20 y 40  $\mu\text{g/mL}$  aplicadas por aspersion. Como resultado obtuvieron que aunque las concentraciones del extracto tuvieron efecto sobre el hongo de manera significativa, los extractos de concentración 20 y 40  $\mu\text{g/ml}$  fueron más eficientes en el control de incidencia de *B. cinerea* sobre la coliflor a comparación de la concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$ .

En este trabajo también se hizo un análisis comparativo, a través de un análisis de

varianza de acuerdo a los resultados de incidencia de la enfermedad (Anexo 2). Este análisis permitió evidenciar las diferencias significativas entre los tratamientos curativos de ambos extractos durante el ensayo. La figura 19 presenta los resultados de eficacia sobre la incidencia de la enfermedad, allí se evaluó la utilización de extractos vegetales aplicados con efecto curativo en el control del hongo *Fusarium oxysporum*. El porcentaje de eficacia más alto, lo presento el tratamiento curativo *Piper arthante* a concentración alta (20%) y baja (10%), las demás aplicaciones en forma curativa no presentaron ningún tipo de control evidenciando datos de 0% de eficacia. En general se puede decir que el tratamiento curativo utilizando el extracto vegetal proveniente de *Piper eriopodon* no es eficiente ya que presenta valores de 0%. Mientras tanto, el extracto *Piper arthante* preventivo a dosis alta y baja obtuvo diferencia significativa con el resto de tratamientos, evidenciando los mejores resultados de eficacia.



**Figura 20. Porcentaje Eficacia extractos vegetales aplicación curativa.**

Como se puede ver el porcentaje de eficacia de los extractos en función curativa es muy bajo o nulo. Por tanto, se demuestra que no hay control aplicando extractos vegetales de la familia *Piperaceae* por método curativo. En conversaciones con

productores de gulupa y de otras especies vegetales atacadas por este mismo hongo, se recogió la información de que hasta el momento se desconoce un producto que pueda revertir los daños que causa *Fusarium oxysporum* en las plantas. Sin embargo, diferentes estudios demuestran que la manera de actuar de los productos de origen vegetal para control de la marchitez vascular ya se han comprobado. En estudios como el de Rodríguez y Montilla (2002) donde la aplicación al suelo del extracto de *Citrus paradisi* generó la disminución de la marchitez causada por *Fusarium*. Los autores discuten que el extracto puede tener dos efectos: ser absorbido por las raíces y entrar en la corriente xilemática, o tener efecto sobre los propágulos de *Fusarium oxysporum* presentes en el suelo. Esto último fue observado por Bowers y Locke (2000) al reducir la densidad poblacional de *Fusarium oxysporum* en el suelo en un 97,5, 9,6, y 99,9% con extractos de *Trifolium pratense*, *Cassia sp.* y *Piper sp.*, respectivamente.

En un estudio realizado por Joseph, *Et al* (2008) Trabajaron con extractos acuosos de diversas especies de plantas para el control de marchitez en berenjena (*Solanum Melongena*) causado por *Fusarium solani* f. sp. *Melongenae*. Neem (*Azardiachta indica*), ajenjo (*Artemessia annua*), eucalipto (*Eucalyptus globulus*); albahaca (*Ocimum sanctum*) y ruibarbo (*Rheum emodi*) fueron probadas con alto porcentaje de inhibición del hongo, siendo el extracto de neem el más efectivo y recomendado por los autores como un buen tratamiento preventivo aplicado directamente en las semillas de berenjena. (Revisado por Villa-Martínez, Pérez-Leal *et al.* 2015).

5.4

#### **PORCENTAJE DE SEVERIDAD DE *Fusarium oxysporum*, EN TRATAMIENTOS CURATIVOS DE LOS EXTRACTOS**

En las Figuras 21 y 22 se puede observar el avance de la severidad a través de cada semana transcurrida en las plántulas de Gulupa; allí se aprecia que la función curativa no presenta actividad biológica sobre *Fusarium oxysporum* en el último muestreo. Los mayores niveles de severidad se observaron en las plántulas tratadas en forma curativa con el extracto de *Piper eripodon*, donde se evidencian valores

del 73%, y 83% de severidad en sus tres concentraciones de mayor a menor. El extracto *Piper arthante* presenta valores similares a concentración media y alta con 80% y 75% de severidad respectivamente. Los valores anteriores coinciden con el testigo positivo, donde la inoculación del patógeno sin ningún tratamiento registró valores de severidad del 80%. Por otra parte, el tratamiento con menores porcentajes de severidad fue el tratamiento de *Piper arthante* a concentración alta con un 50% de severidad.

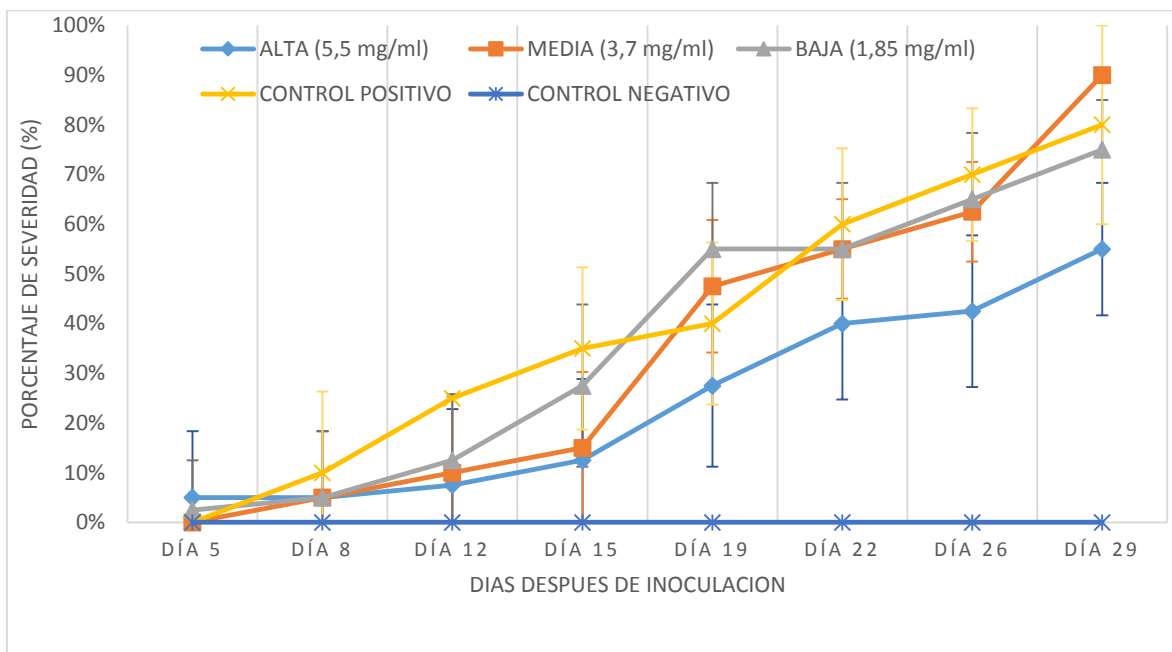
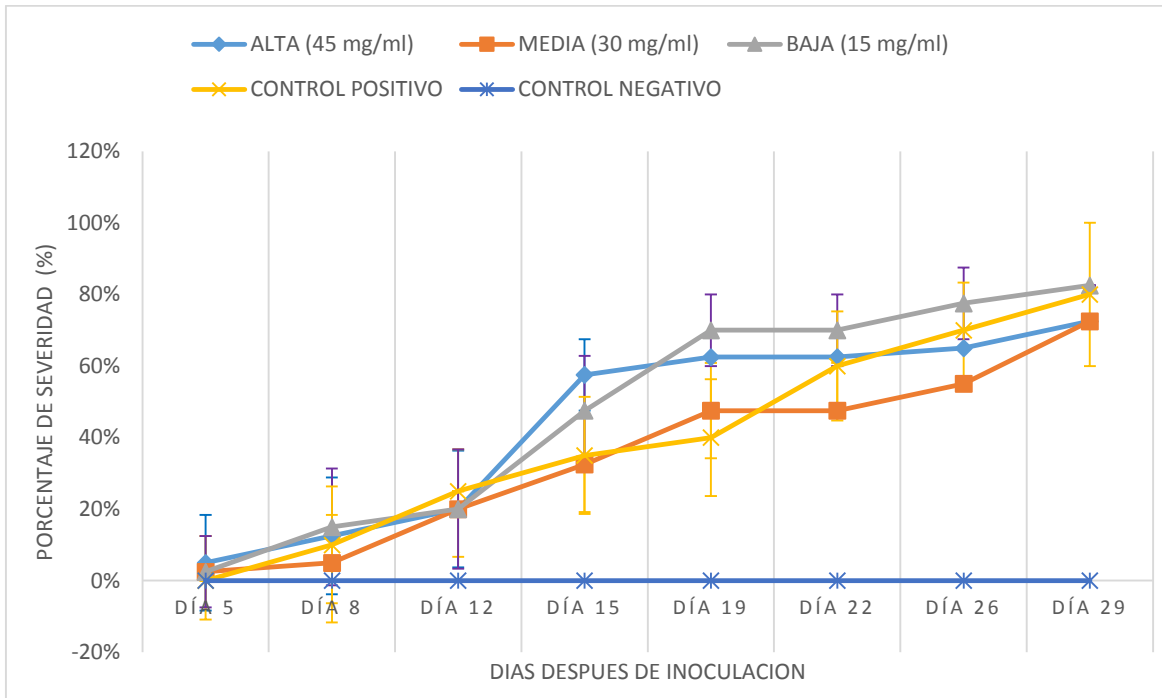


Figura 21. Porcentaje de severidad tratamiento curativo *Piper arthante*.



**Figura 22. Porcentaje de severidad tratamiento curativo *Piper eriopodon*.**

Todos los tratamientos a diferentes dosis presentan un aumento de la enfermedad al pasar los días comenzando desde los 5 DDI en la mayoría de los tratamientos.

La fenología y edad de las plantas influyen de manera directa en los síntomas y momento de aparición de la enfermedad. En el estudio de Ortiz (2012) se realizaron pruebas de patogenicidad de *F. oxysporum* en plantas de diferentes etapas de crecimiento. Los resultados permitieron determinar que los periodos de incubación del hongo son cortos (14 - 24 dpi, en plantas jóvenes y 42 - 46 dpi en plantas adultas), y que los porcentajes de incidencia (100%) y severidad (mortalidad del 100%) son altos, sugiriendo que este agente puede generar epidemias limitantes de

5.5

rápido avance.

### **PORCENTAJE DE SEVERIDAD DE *Fusarium oxysporum*, EN TRATAMIENTOS PREVENTIVOS DE LOS EXTRACTOS**

Los resultados de severidad para la última semana de muestreo a los 29 días después de inoculación, demuestran que los tratamientos preventivos fueron menores al 35% en las tres concentraciones de mayor control, *Piper eriopodon*

dosis media y *Piper arthante* dosis alta y media. Las demás concentraciones de cada extracto presentaron datos de mayores al 50% al finalizar los muestreos. Con respecto al control positivo se obtuvo 80% de severidad a los 29 DDI, mostrando el mayor porcentaje de severidad con respecto a los controles preventivos establecidos.

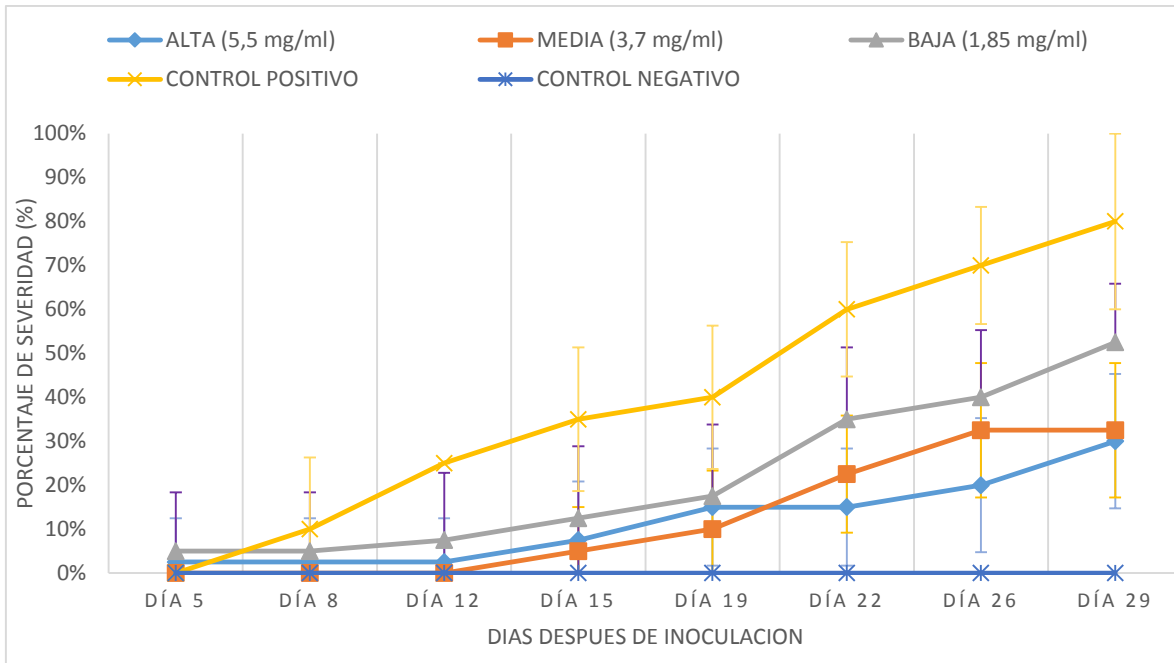


Figura 23. Porcentaje de severidad tratamiento preventivo *Piper arthante*.

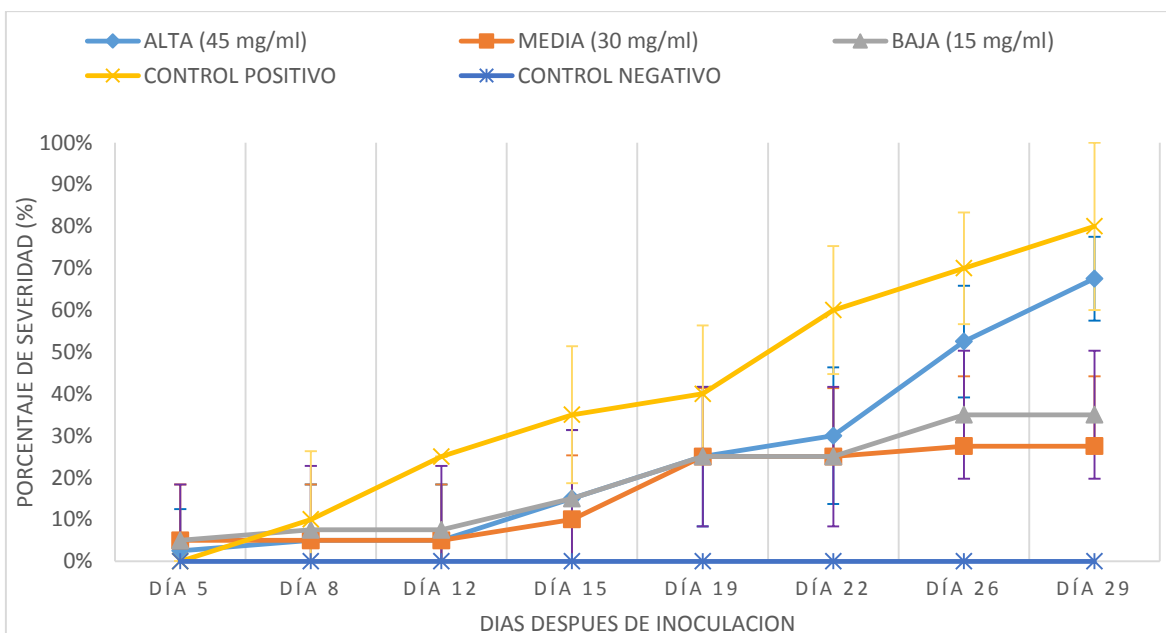


Figura 24. Porcentaje de severidad tratamiento preventivo *Piper eriopodon*.

Se presume que los compuestos químicos en los extractos vegetales generan en los hongos fitopatógenos: desnaturalización de la proteína en la membrana celular, precipitación de proteínas celulares, inhibición enzimática y pérdida de aminoácidos. Sin embargo claramente no se tiene determinado el mecanismo de acción de los extractos sobre la actividad en los hongos (Prieto *et al.*, 2013).

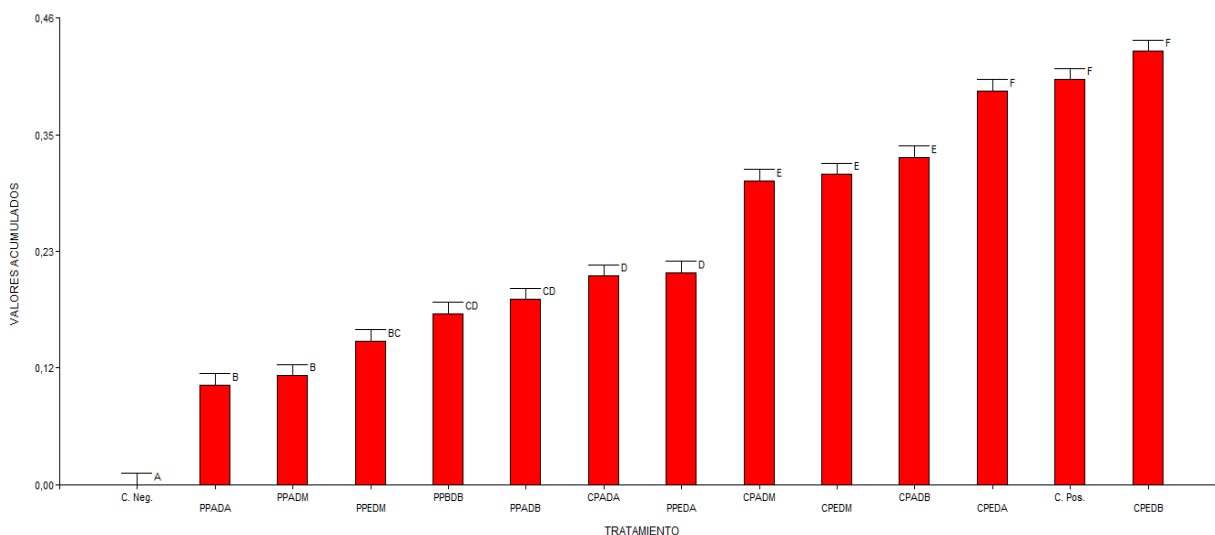
Se conoce que el extracto de *Piper eripodon*, utilizado en el presente estudio, posee compuestos fenólicos que presentan principalmente actividad antifúngica, como lo citado por Dambolena *et al* (2010). Dicha actividad se debe al alto contenido de compuestos fenólicos como el Gibbilimbol B, que pueden afectar el crecimiento del patógeno y evitan la interacción planta –hongo y bajar el nivel de la germinación de las esporas (Ruan.,1995).

Los mecanismos de actividad antifúngica de los productos naturales, en este caso los extractos vegetales, no están claramente establecidos Prieto *et al* (2013), Por esta razón no se puede determinar que mecanismo de acción está influyendo en el proceso de inhibición del hongo *Fusarium oxysporum* , con lo cual se requiere un mayor estudio y experimentos que establezcan el mecanismo de acción existente entre los compuestos que se encuentran en los extractos y la inhibición del desarrollo del hongo.

El análisis de varianza realizado para el área bajo la curva de progreso de la enfermedad se muestra en la Figura 25, allí se puede evidenciar que no hay diferencias significativas a lo largo de la epidemia entre el control positivo con valores de 40% y la función curativa de *Piper eripodon* a concentración 45 y 15 mg/ml, presentando valores de 39% y 43% de porcentaje de severidad.

Los valores más bajos en cuanto a la severidad los evidencio la función preventiva de *Piper arthante* a concentración 5,5 mg/ml y 3,7 mg/ml con datos del 10 y 11% respectivamente. Todos los demás tratamientos preventivos presentaron datos menores en comparación a control positivo, por ende, se evidencian las diferencias

significativas. Ratificando los resultados del último muestreo de la variable severidad.



**Figura 25. Valores promedio de área bajo la curva de progreso de la enfermedad para la variable severidad de la enfermedad (ABCPE es adimensional).**

## **PORCENTAJE MORTALIDAD DE *Fusarium oxysporum*, EN PLANTULAS DE GULUPA**

Con el fin de evaluar la tasa de mortalidad de las plántulas en los diferentes tratamientos utilizados en esta investigación, se realizó un estudio comparativo del total de plantas en grado 4, según la escala de severidad de la enfermedad causada por *Fusarium oxysporum* (Tabla N° 5).

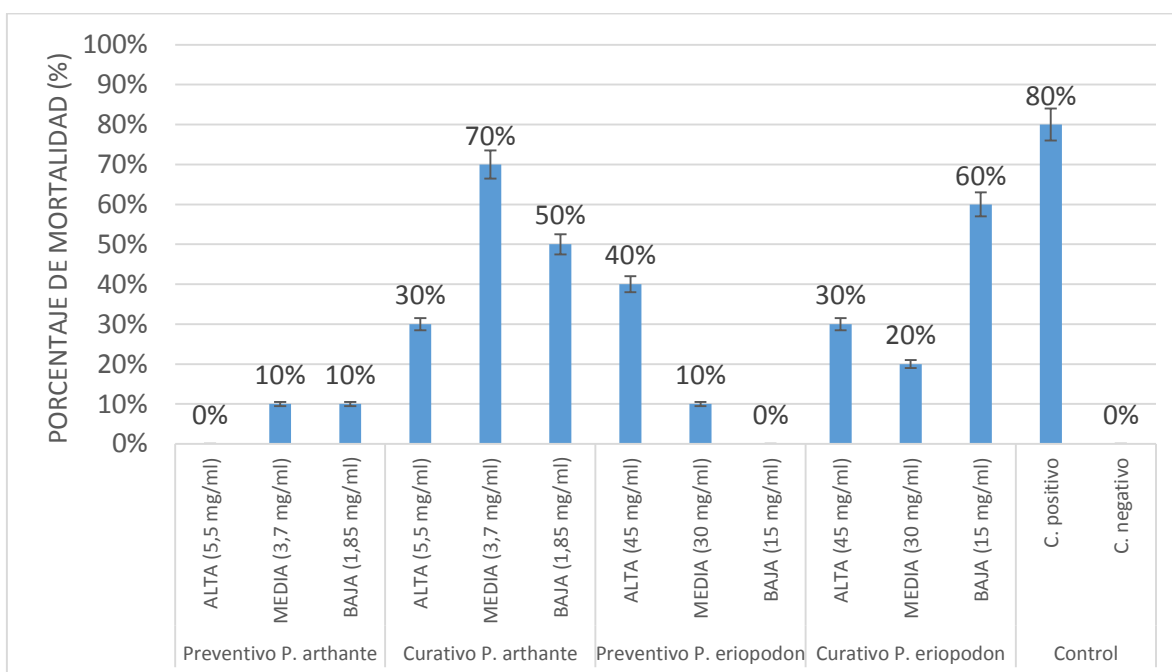
Los datos obtenidos se señalan en la Figura 24. Como se puede observar, los tratamientos que presentaron la menor tasa de mortalidad ocasionada por *Fusarium oxysporum*, fueron los tratamientos preventivos de aplicación de *Piper arthante* a concentración alta (5,5 mg/ml) y *Piper eriopodon* a concentración baja (15 mg/ml) con 0% de plantas en grado 4.

La concentración más alta (5,5 mg/ml) del extracto de *Piper arthante* logró obtener 0% de mortalidad, estos resultados son similares con lo reportado por Cueto Wong (2010), quien determinó el efecto inhibitorio del aceite esencial y diferentes extractos de orégano (*Lippia berlandieri* Schauer) sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum*, tanto *in vitro* como en plántulas de tomate. En su estudio encontraron



que el inicio de la mortalidad de las plántulas obtenidas a partir de semillas desinfectadas con las concentraciones menores de aceite esencial, inicia el día 16 específicamente. Observando que el porcentaje de mortalidad de la plántula disminuyó al incrementarse la concentración de aceite esencial empleada para desinfectar las semillas de tomate.

Las aplicaciones preventivas de *Piper arthante* y *Piper eriopodon* a concentración media (3,75 mg/ml) y (30 mg/ml) respectivamente, presentaron una tasa de mortalidad del 10% a los 29 días después de inoculación, junto *Piper arthante* dosis baja (1,85 mg/ml) con el mismo valor.



**Figura 26. Porcentaje de mortalidad causado por *Fusarium oxysporum* en plántulas de Gulupa.**

Las aplicaciones con fines curativos presentaron la tasa de mortalidad más alta, esto se evidencia en la figura 24, allí se observa que el tratamiento que presenta la mayor tasa de mortalidad es *Piper arthante* a concentración media (3,7 mg/ml) evidenciando 70% de la población en grado 4. Además en las aplicaciones de los dos extractos a dosis baja: *Piper arthante* (1,85 mg/ml) y *Piper eriopodon* (15 mg/ml), presentaron datos de mortalidad de 50% y 60% consecutivamente. Estos

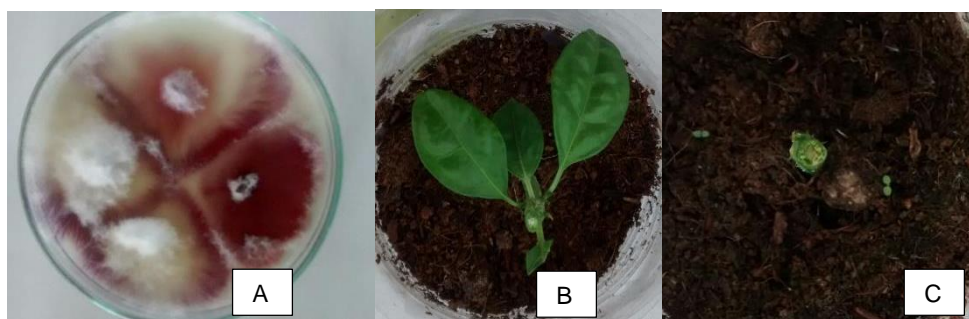
datos son los más cercanos al valor del control positivo, el cual presento 80% de plantas muertas a los 29 días después de inoculación.

La menor tasa de mortalidad con fines curativos se presentó con la aplicación del extracto *Piper eriopodon* a concentración media (30 mg/ml), con tan solo el 20% de plantas muertas sobre el total de la población.

### **REISLAMIENTO *Fusarium oxysporum***

5.7

Con el fin de verificar la infección causada por *Fusarium oxysporum*, se procedió a realizar un aislamiento del hongo. Este aislamiento se hizo a partir de plantas con síntomas de la enfermedad que habían sido inoculadas con la cepa de *Fusarium oxysporum* utilizada en este el trabajo. En el procedimiento se utilizaron cortes longitudinales de tallos enfermos que demostraron síntomas de la enfermedad. Según lo reportado por Sarmiento y Trujillo, (2006) las características macroscópicas de *Fusarium oxysporum* generalmente presentan, colonias inicialmente de color blanco hasta matizarse a salmón a medida que crece el hongo presenta una coloración lavanda a purpura en anverso y reverso. La textura de la colonia es algodonosa y plana, como se evidencia en la Figura 27, se relacionan la descripción del hongo con los resultados obtenidos. Además de las características microscópicas de *Fusarium oxysporum* presentan la formación de hifas septadas hialinas, conidióforos cortos y no bifurcados o ramificados; las macroconidias son usualmente producidas en abundancia, delgadas, unicelulares con 5-6 septos. Pueden alcanzar un tamaño de 3-4.5 $\mu$ ; las microconidias son abundantes al igual que las macroconidias, no septadas, de forma en hélice o cilíndrica, ligeramente curvas o rectas, las clamidioconidias se presentan a menudo en abundancia reparada o en parejas (Sarmiento y Trujillo, 2006).



**Figura 27. Apariencia macroscópica y Sintomatología del hongo *F. oxysporum*.**  
**A: Aislamiento fusarium en cultivo puro, B: Apariencia tallo en planta sana y C: Anillo vascular afectado por el hongo *F. oxysporum*.**

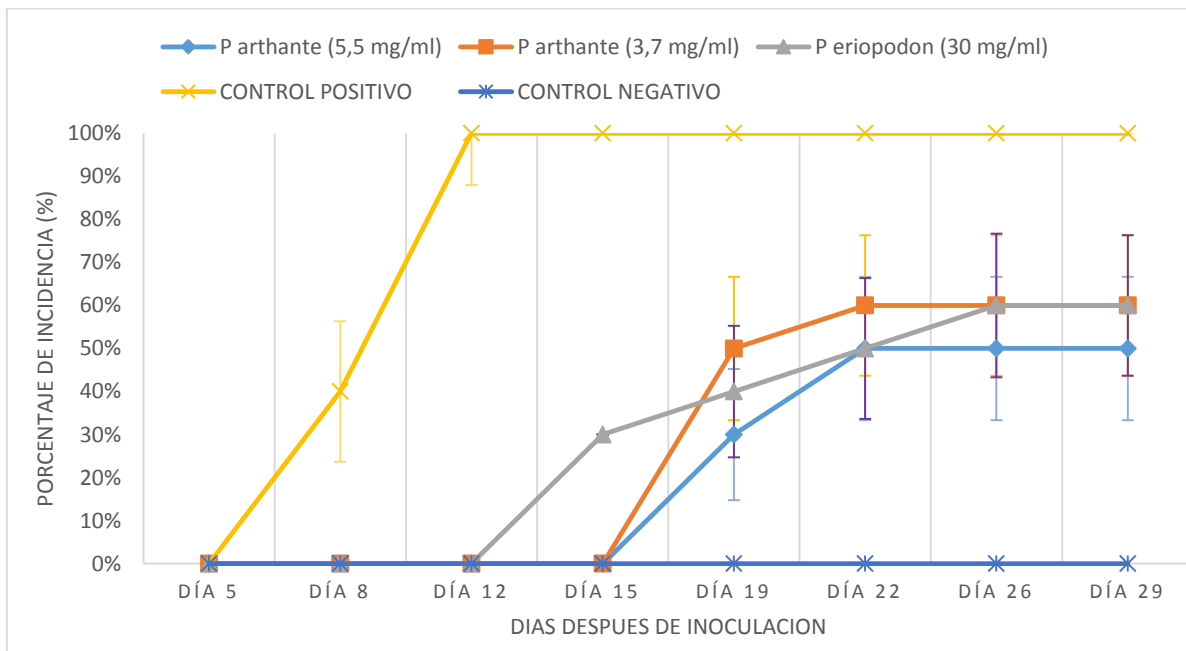
Adicionalmente, la apariencia visual de los cortes del tallo coincide con lo reportado por Agrios (2002), donde el tallo cortado transversalmente, presenta en los haces vasculares una coloración amarillenta o marrón con la muerte y “deshilachamiento” de los tejidos. Sin afectarse la medula; Este es un aspecto muy importante para diagnosticar la enfermedad y distinguirla de otras enfermedades vasculares.

## ■ SEGUNDA EVALUACION

En la primera evaluación los tres tratamientos que presentaron el mayor control frente a *Fusarium oxysporum* fueron los tratamientos preventivos del extracto de *Piper arthante* a concentraciones alta (5,5 mg/ml) y media (3,7 mg/ml), y el extracto de *Piper eriopodon* a concentración media (30 mg/ml). Con la finalidad de reevaluar los resultados obtenidos, se realizaron mediciones de porcentaje de incidencia, porcentaje de severidad y porcentaje de eficacia a los tres tratamientos que presentaron el mayor control frente a *Fusarium oxysporum* en la primera evaluación. El objetivo de esta segunda evaluación fue determinar el mejor tratamiento preventivo frente a la enfermedad.

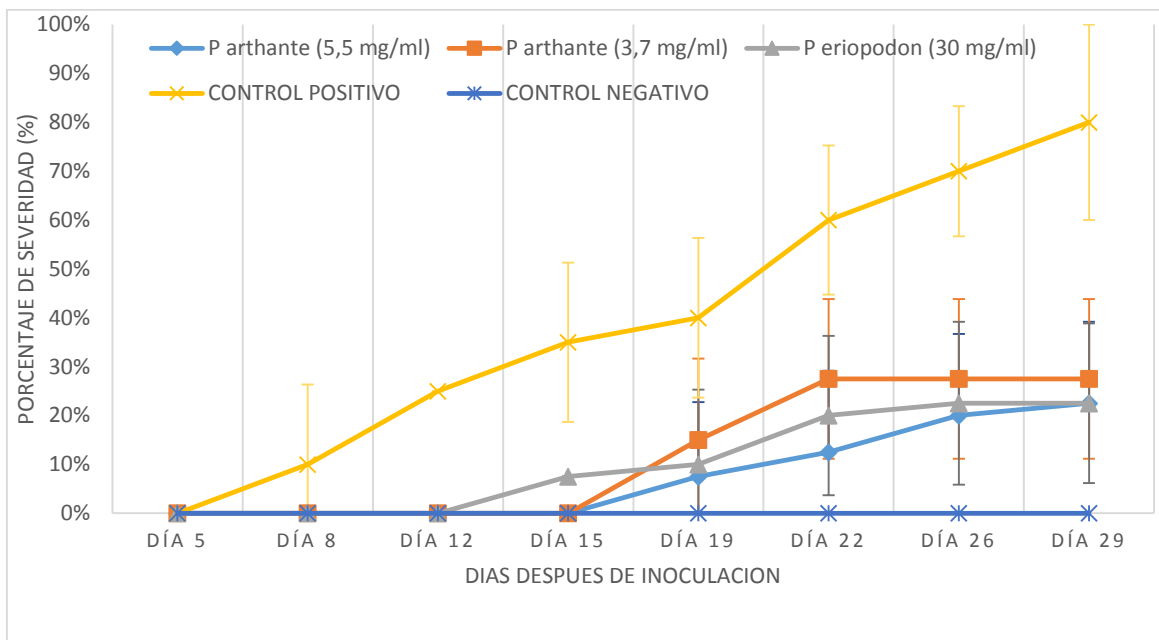
En la gráfica 28 se observan los datos de la variable porcentaje de incidencia en función preventiva. En *Piper arthante* concentración alta (5,5 mg/ml) se presentaron valores de 50% de incidencia a los 29 días después de inoculación, seguido por *Piper arthante* a (3,5 mg/ml) y *Piper eriopodon* (30 mg/ml) con valores de 60% en cuanto a esta variable. Los primeros síntomas de la enfermedad se evidenciaron a

los 15 días después de inoculación en *Piper eriopodon* (30 mg/ml) y 19 días en las dos concentraciones de *Piper arthante*. Todos los tratamientos se diferencian del control positivo, dado que presento valores de 100% de incidencia y la infección se observó a los 8 días después de inoculación con 40% de la población afectada con síntomas de la enfermedad. Esto demuestra que hubo control con las aplicaciones realizadas.



**Figura 28. Porcentaje de incidencia, tratamientos de mayor control del patógeno.**

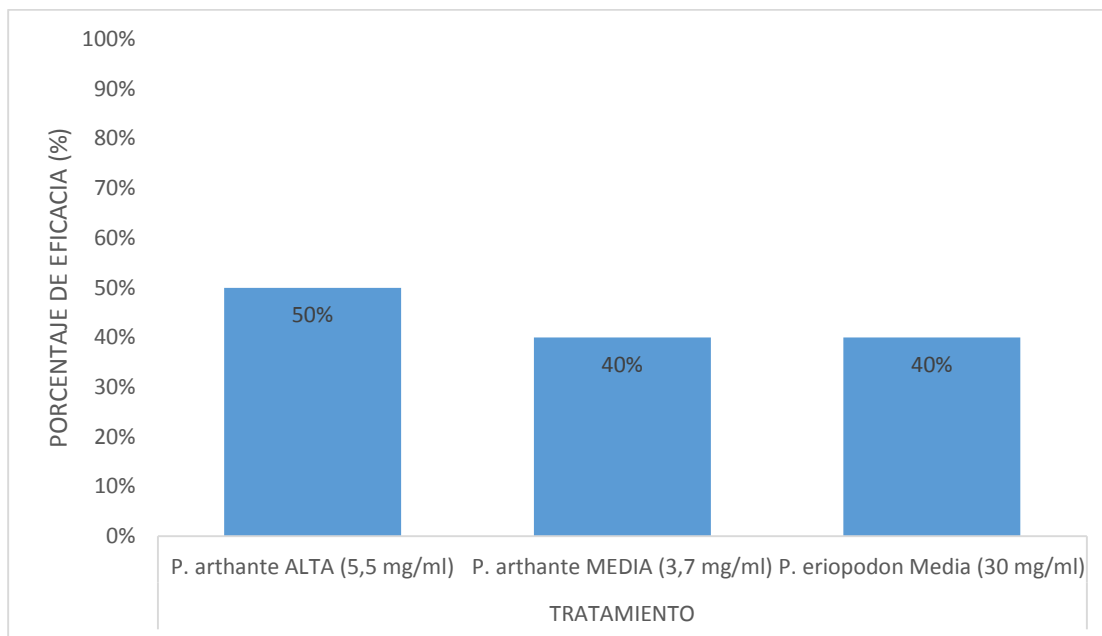
Los resultados de severidad en la segunda evaluación se muestran en la figura 29, los resultados obtenidos fueron: 28% en el tratamiento *Piper arthante* a concentración media (3,5 mg/ml) y 23% en los dos tratamientos de mayor control, que fueron *Piper eriopodon* concentración alta (5,5 mg/ml) y *Piper eriopodon* concentración media (30 mg/ml). Todos los tratamientos presentan datos menores en comparación al control positivo, ya que este presentó un 80% de severidad, evidenciando que al aplicar los extractos de manera preventiva presento control de la enfermedad causada por *Fusarium oxysporum*.



**Figura 29. Porcentaje de severidad, tratamientos de mayor control del patógeno.**

En la Figura N° 30 se observa los porcentajes de eficacia obtenidos en las aplicaciones preventivas de los tres mejores tratamientos en la primera evaluación. Los resultados evidencian que los extractos vegetales aplicados presentan de nuevo un efecto preventivo sobre la enfermedad. Los datos demuestran que el mayor porcentaje de eficacia se obtuvo con el extracto vegetal de *Piper arthante* a concentración alta (5,5 mg/ml) con 50% de eficacia, 20% menos que en la evaluación número 1, seguido por *Piper eriopodon* (30 mg/ml) y *Piper arthante* (3,5 mg/ml) con 40% de eficacia, 30% y 10% menos que en la primera evaluación.

Dado que en las dos evaluaciones el extracto vegetal de *Piper arthante* muestra los valores más altos en el porcentaje de eficacia en la prevención de la enfermedad. Se puede afirmar que el extracto vegetal de *Piper arthante* es el mejor tratamiento preventivo para el control de *Fusarium oxysporum* en plántulas de gulupa, respecto a los demás tratamientos evaluados.



**Figura 30. Porcentaje de eficacia preventivo, tratamientos de mayor control**

Los resultados obtenidos en la presente investigación demuestran que las plantas pueden llegar a adquirir algún tipo de resistencia a los agentes patógenos al utilizar el control biológico a base de extractos vegetales de *Piper arthante* y *Piper eriopodon* como opción preventiva. Se conoce que algunos extractos vegetales tienen la capacidad de inducir la síntesis de enzimas propias de la planta y fortalecer así su respuesta defensiva ante el ataque de patógenos. Fue el caso demostrado de Hanaa *et al.* (2011), quienes emplearon extractos acuosos de neem (*Azardiachta indica*) y sauce (*Salix babylonica*) en plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*); estos redujeron la incidencia de la enfermedad de la marchitez por *F. oxysporum* en plántulas de tomate hasta casi un 30%, mediante el aumento de las actividades de las enzimas defensivas antioxidantes secretadas por la planta de tomate, como la peroxidasa (POX), la catalasa (CAT) y la súper óxido dismutasa (SOD). Estos y muchos otros métodos estudiados han resultado de bajo costo, fáciles de preparar y con niveles altos de efectividad contra algunas especies de *Fusarium* (Hanaa *et al.*, 2011).

*Piper betel* (*Piperaceae*) es otra especie con muy buenos resultados, con un valor de MIC 0.50 mg / L, donde una vez más, la actividad se atribuye a los compuestos fenólicos. Debido a la presencia de OH, siendo capaz de formar enlaces de hidrógeno con las enzimas del punto activo y aumenta la actividad a través de la desnaturalización de la enzima.

Tanto los resultados del presente trabajo como las evidencias bibliográficas demuestran que la prevención es la mejor opción de atacar enfermedades causadas por este tipo de microorganismo. Al mismo tiempo se puede afirmar que la aplicación de extractos vegetales se presentan como uno de los métodos preventivos más promisorios dentro manejo integrado de la enfermedad causada por el hongo *Fusarium oxysporum* en Gulupa.

## 6 CONCLUSIONES

- La aplicación de extractos vegetales de *Piper arthante* y *Piper eriopodon* en forma preventiva resulta en una disminución de la incidencia, severidad y mortalidad causada por *Fusarium oxysporum*. Con lo cual se demuestra que los extractos utilizados en el estudio pueden tener actividad biológica preventiva frente a la enfermedad causada por *Fusarium oxysporum*.
- La actividad biológica de los extractos vegetales *Piper arthante* y *Piper eriopodon* frente a la enfermedad causada por *Fusarium oxysporum* no tiene efectos curativos.
- El tratamiento preventivo con el extracto vegetal obtenido de inflorescencias de *Piper arthante* presento los valores más bajos de porcentaje de incidencia de la enfermedad y mortalidad causada por *Fusarium oxysporum*. Es por esta razón que el tratamiento preventivo *Piper arthante*, específicamente a dosis alta (5,5 mg/ml), exhibe la mayor eficacia frente al ataque del patógeno. El extracto de esta planta se postula como un producto de origen biológico promisorio para el control de la enfermedad en campo.
- El extracto vegetal obtenido de hojas de *Piper eriopodon* en concentración de 30 mg/ml, tuvo un efecto preventivo sobre *Fusarium oxysporum* y su acción parece tener un efecto sobre el avance de la enfermedad dentro de la planta.
- Las dosis altas de tratamientos curativos del extracto vegetal de *Piper eriopodon* pueden causar fitotoxicidad en plántulas de Gulupa.



## 7 RECOMENDACIONES

- Establecer un ensayo para evaluar las frecuencias óptimas de aplicaciones de los extractos vegetales de *Piper arthante* y *Piper eriopodon* para control de *Fusarium oxysporum*.
- Evaluar otras plantas de la familia *Piperaceae* que presenten efecto antifúngica para control de *Fusarium oxysporum*.
- Evaluar los resultados de este trabajo en parcelas experimentales.
- Evaluar el extracto vegetal *Piper arthante* y *Piper eriopodon* a la CMI en diferentes zonas de cultivo de Gulupa (*Passiflora edulis*), contrastando las condiciones ambientales.
- Probar los extractos vegetales utilizados en este estudio en diferentes especies vegetales de la zona.

## 8 BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G. (2005). Vascular wilts caused by ascomycetes and deuteromycetes (mitosporic fungi). *Plant Pathology, 5th edn. Elsevier Academic Press, New York*, 522-530.
- Agrios George n. 2006. Protección directa mediante métodos de control químico, En: Fitopatología. 2da Ed. Limusa. D. F. México. pp. 209–234.
- Ángel, A. D., *et al.* (2014). "Evaluación de la actividad fungistática del extracto de la cáscara del mangostino (*Garcinia mangostana* L.) en *Botrytis cinérea* para la biopreservación de la coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*)." *Alimentos Hoy* 22(33): 59-80.
- Ancurio, V. R. D. (2010). *Técnicas de Prevención y Control de Fusarium oxysporum f. sp. dianthi en clavel (Dianthus caryophyllus) y su Incidencia en la Productividad* (Doctoral dissertation, Tesis. Universidad Técnica de Ambato. Ecuador).
- AS, R., & JE, L. (2002). Efecto de extractos vegetales sobre el desarrollo in vitro de *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal de la Sigatoka negra en Musáceas. *ACORBAT, 15, 2002, Cartagena de Indias, Colombia*.
- Balaguera, H. E., Álvarez, J. G., & Cárdenas, J. (2010). EFECTO DE LA ESTRATIFICACIÓN FRÍA Y LA COBERTURA PLÁSTICA EN SEMILLAS DE GULUPA (*Passiflora edulis* Sims.) PARA LA OBTENCIÓN DE PLÁNTULAS. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, 13*, 89-97.
- Ben-Jabeur, M., Ghabri, E., Myriam, M., & Hamada, W. (2015). Thyme essential oil as a defense inducer of tomato against gray mold and Fusarium wilt. *Plant Physiology and Biochemistry, 94*, 35-40.
- Benítez, S., & Hoyos-Carvajal, L. (2010). *Caracterización del agente etiológico de la enfermedad denominada "mancha de aceite" en cultivos de gulupa (Passiflora edulis Sims.) en zonas productoras de Colombia*. Paper presented at the Primer Congreso Latinoamericano de Passiflora.
- Cáceres, A., & Kato, M. J. (2014). Importance of a multidisciplinary evaluation of Piper genus for development of new natural products in Latin America. *Int. J. Phytocosmet. Nat. Ingrid, 1, 4*.
- Camelo, V. (2010). *Detección e identificación de los virus patógenos de cultivos de gulupa (Passiflora edulis Sims.) en la región del Sumapaz*. Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.
- Caranguay, O. and H. Emiro Etiología de enfermedades asociadas a fusariosis en el cultivo de gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) en la región del Sumapaz, Universidad Nacional de Colombia.
- Celis, Á., Mendoza, C., Pachón, M., Cardona, J., Delgado, W., & Cuca, L. E. (2008). Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. Una revisión. *Agronomía Colombiana, 26(1)*, 97.
- Cerutti, M., & Neumayer, F. (2004). Introducción a la obtención de aceite esencial de limón. *Invenio: Revista de investigación académica (12)*, 149-155.
- Cueto Wong, M. C. (2010). Determinación del efecto inhibitorio del aceite esencial y diferentes extractos de orégano (*Lippia berlandieri* Schauer) sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum* tanto in vitro como en plántula de tomate. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Cruz-Aguilar, M., Hoyos-Carvajal, L., & Melgarejo, L. (2012). Respuesta fisiológica de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims) frente al ataque por *Fusarium* spp. *Ecofisiología del cultivo de la gulupa*, 91-113.
- Dambolena, J. S., Zunino, M. P., López, A. G., Rubinstein, H. R., Zygadlo, J. A., Mwangi, J. W., . . . Kariuki, S. T. (2010). Essential oils composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. from Kenya and their inhibitory effects on growth and fumonisin production by *Fusarium verticillioides*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies, 11(2)*, 410-414.

- Desjardins, A. E., Manandhar, G., Plattner, R. D., Maragos, C. M., Shrestha, K., & McCormick, S. P. (2000). Occurrence of *Fusarium* species and mycotoxins in Nepalese maize and wheat and the effect of traditional processing methods on mycotoxin levels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(4), 1377-1383.
- Duarte, Y., Pino, O., & Martínez, B. (2013). Efecto de cuatro aceites esenciales sobre *Fusarium* spp. *Revista de Protección Vegetal*, 28, 232-235.
- EMPRESARIAL, V. D. F. (2015). GULUPA.
- Estupiñan, R., & Ossa, A. (2007). Efecto del agente causal de la marchitez vascular de la uchuva (*Physalis peruviana*) el hongo *Fusarium oxysporum* Schltdl, sobre algunas solanáceas y otras especies cultivadas afectadas por formas especiales del microorganismo. *Pontificia Universidad Javeriana*, 89.
- García, C., Mier, G., Alzate, D., Mora, A., & Afanador, K. (2006). Evaluación de la actividad biológica de aceites esenciales contra *Collectotrichum acutatum* su acción fitotóxica sobre *Solanum betaceum* (Cav) Sendt. In *Memorias XXVI Congreso Ascolfi, Bogotá* (pp. 8-31).
- Fernández, P., & Laurentin, H. (2016). Efecto de extractos etanólicos de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *Sesami*. *Acta Agronómica*, 65, 104-108.
- Guédez, C., Cañizalez, L., Avendaño, L., Scorza, J., Castillo, C., Olivar, R., . . . Sánchez, L. (2014). Actividad antifúngica del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis* L.) sobre hongos postcosecha en frutos de lechosa (*Carica papaya* L.). *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 34, 81-87.
- Hanaa, R. F., Abdou, Z. A., Salama, D. A., Ibrahim, M. A., & Srour, H. (2011). Effect of neem and willow aqueous extracts on *Fusarium* wilt disease in tomato seedlings: Induction of antioxidant defensive enzymes. *Annals of Agricultural Sciences*, 56(1), 1-7.
- Jiménez Neira, Y. (2006). El cultivo de la gulupa *Passiflora edulis* Sims. *Bogotá: Tesis (Especialización) en Horticultura con énfasis en Fruticultura. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía. Escuela de Posgrados.*
- Kagale, S., et al. (2004). "Antimicrobial activity and induction of systemic resistance in rice by leaf extract of *Datura metel* against *Rhizoctonia solani* and *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*." *Physiological and Molecular Plant Pathology* 65(2): 91-100.
- Joseph, B., et al. (2008). "Bioefficacy of plant extracts to control *Fusarium solani* f. sp. *melongenae* incitant of brinjal wilt." *Global Journal of Biotechnology & Biochemistry* 3(2): 56-59.
- Kraft, J. M., & Pflieger, F. L. (2001). *Compendium of pea diseases and pests*: American Phytopathological Society (APS Press).
- Lampkin, N. (2001). *Agricultura ecológica*, Mundi-Prensa.
- Lizacano – González , M.C. (2007). "Evaluación de la actividad antifúngica del extracto de tomillo (*thymus vulgaris*) contra *botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* y *Sclerotinia sclerotiorum*". Trabajo de grado Microbiología Agrícola y Veterinaria. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá – Colombia.
- Lizcano, A., & Vergara, J. (2008). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o Aceites Esenciales de las especies vegetales, *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos y fitopatógeno. Trabajo de grado (Microbiología Industrial): Bogotá DC: Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Carrera de Microbiología Industrial. *Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá DC–Colombia.*
- Matos, R.C, (2006). Proyección de las plantas contra hongos que afectan a los cultivos y se almacena En: Rai, M., Carpinella, MC, editores. Los avances en Fitomedicina, Volumen 3. Naturalmente presentes en los compuestos bioactivos. Elsevier, 139-170 p.
- Moreno López, J. P. (2011). Actividad antifúngica de los extractos vegetales de *Piper eripodon* y *Zanthoxylum monophyllum* y sus metabólicos secundarios mayoritarios sobre dos hongos fitopatógenos de clavel (*Dianthus caryophyllus*). Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia.
- Morton, J. F. (1987). *Fruits of warm climates*: JF Morton.
- Morales, Daysi; Ramírez, M. A.; Rodríguez, Aida T.; (2000). Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de hongos fitopatógenos. *Cultivos Tropicales*, Abril-Junio, 79-82.

- Moya, J., & García, C. (2010). Determinación de la incidencia e identificación de nematodos fitoparásitos en un cultivo comercial de gulupa *Passiflora edulis* Sims. *Trabajo de grado. Universidad de Cundinamarca, Fusagasugá, Colombia.*[Links].
- Mueller-Riebau, F., Berger, B., & Yegen, O. (1995). Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(8), 2262-2266.
- Naeini, A., Ziglari, T., Shokri, H., & Khosravi, A. (2010). Assessment of growth-inhibiting effect of some plant essential oils on different *Fusarium* isolates. *Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology*, 20(3), 174-178.
- Necha, L. L. B., & Barrera, L. J. G. (2009). Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. aislado de papaya (Carica papaya).
- Ocampo, J., & Wyckhuys, K. (2012). Tecnología para el Cultivo de Gulupa en Colombia. *Centro de Bio-Sistemas de la Universidad Jorge Tadeo Lozano, Centro Internacional de Agricultura Tropical-CIAT y Ministerios de Agricultura y Desarrollo Rural. República de Colombia.*
- Ortiz, E. (2012). Descripción de la sintomatología asociada a fusariosis y comparación con otras enfermedades en gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) en la región del Sumapaz (Colombia). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 6(1), 110-116.
- Ortiz, E., Farfán, L., Riascos, D., Benítez, S., Camelo, V., Ortíz, D., . . . Moya, J. (2010). Avances del Grupo de investigación en Gulupa: Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional. Sede Bogotá.
- Ortiz Vallejo, D. C. (2010). *Estudio de la variabilidad genética en materiales comerciales de gulupa (Passiflora edulis f. edulis Sims) en Colombia/Evaluation of genetic variability in gulupa (Passiflora edulis f. edulis Sims) from commercial materials in Colombia.* Universidad Nacional de Colombia.
- Pawar, V., & Thaker, V. (2007). Evaluation of the anti-*Fusarium oxysporum* f. sp. cicer and anti-*Alternaria porri* effects of some essential oils. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(8), 1099-1106.
- Pérez, J. O., d'Eeckenbrugge, G. C., Restepo, M., Jarvis, A., Salazar, M., & Caetano, C. (2007). Diversity of Colombian Passifloraceae biogeography and an updated list for conservation. *Biota Colombiana*, 8(1), 1-45.
- Prieto, J. A., Patiño, O. J., Plazas, E. A., Pabón, L. C., Ávila, M. C., Guzmán, J. D., . . . Cuca, L. E. (2013). Natural products from plants as potential source agents for controlling fusarium. *Fungicides-Showcases of Integrated Plant Disease Management from Around the World. Croacia: Intech*, 233-278.
- Punja, Z. K., & Parker, M. (2000). Development of *Fusarium* root and stem rot, a new disease on greenhouse cucumber in British Columbia, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. radiscucumerinum. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 22(4), 349-363.
- Pinzón, I. M. d. P., Fischer, G., & Corredor, G. (2007). Determinación de los estados de madurez del fruto de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims.). *Agronomía Colombiana*, 25, 83-95.
- Quintana, Y. and W. Lenin (2015). "Efecto toxicológico de extractos vegetales sobre *Fusarium oxysporum* bajo condiciones controladas."
- Rodríguez, A. T., Morales, D., & Ramírez, M. (2000). Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de hongos fitopatógenos. *Cultivos tropicales*, 21(2), 79-83.
- Rodríguez, D. A. and J. O. Montilla (2002). "Disminución de la marchitez causada por *Fusarium* en tomate con extracto de *Citrus paradisi*."
- Ruan, Y., Kotraiah, V., & Straney, D. C. (1995). Flavonoids stimulate spore germination in *Fusarium solani* pathogenic on legumes in a manner sensitive to inhibitors of cAMP-dependent protein kinase. *MPMI-Molecular Plant Microbe Interactions*, 8(6), 929-938.
- Sarmiento, C., & Trujillo, M. (2006). Estandarización e implementación de las técnicas en el diagnóstico clínico de micosis cutáneas en el laboratorio de micología,(publicación interna). Bogotá, Pontificia Universidad Javeriana.
- Serrano, A., & JC Quevedo García, E. (1989). *Análisis de la floración y fructificación bajo tres sistemas de soporte en la gulupa.* Retrieved from

- Torres, C. (2004). Investigación en la transformación secundaria de frutos, tubérculos, flores, hojas o tallos de especies pertenecientes a ecosistemas andinos. *Informe Técnico. Jardín Botánico. Bogotá*, 2-14.
- Torres, G. A. (2000). Algunos aspectos de los hongos del genero *Fusarium* y de la especie *Fusarium oxysporum*. *Agronomía Colombiana*, 17(1-3), 11-16.
- Ulmer, T., MacDougal, J. M., & Ulmer, B. (2004). *Passiflora: passionflowers of the world. Portland, Or.: Timber Press 430p.-illus., col. illus.. ISBN, 881926485.*
- Velluti, A., Sanchis, V., Ramos, A., Egido, J., & Marí, S. (2003). Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarose essential oils on growth and fumonisin B 1 production by *Fusarium proliferatum* in maize grain. *International journal of food microbiology*, 89(2), 145-154.
- Villa-Martínez, A., Pérez-Leal, R., Morales-Morales, H. A., Basurto-Sotelo, M., Soto-Parra, J. M., & Martínez-Escudero, E. (2015). Current situation of *Fusarium* spp in the control and evaluation of the antifungal activity on vegetables extracts. *Acta Agronómica*, 64(2), 194-205.

## 9 ANEXOS

### ANEXO. 1 Análisis de varianza incidencia causada por *Fusarium oxysporum*

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
INCIDENCIA	112	0,36	0,27	60,94

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	43311,61	13	3331,66	4,21	<0,0001
TRATAMIENTO	43311,61	13	3331,66	4,21	<0,0001
Error	77537,50	98	791,20		
Total	120849,11	111			

#### Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=48,37401

Error: 791,1990 gl: 98

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
TESTIGO ABSOLUTO	0,00	8	9,94 A
PPADM	17,50	8	9,94 A B
PPADA	30,00	8	9,94 A B C
PPEDM	33,75	8	9,94 A B C
PPADB	45,00	8	9,94 A B C
PPEDB	45,00	8	9,94 A B C
PPEDA	46,25	8	9,94 A B C
CPADA	48,75	8	9,94 B C
CPADB	55,00	8	9,94 B C
CPADM	55,00	8	9,94 B C
TESTIGO INOCULADO	63,75	8	9,94 B C
CPEDM	65,00	8	9,94 B C
CPEDB	67,50	8	9,94 C
CPEDA	73,75	8	9,94 C

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

### ANEXO. 2 Análisis de varianza severidad causada por *Fusarium oxysporum*

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
AFECTACION	112	0,43	0,36	78,59

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	40557,21	13	3119,79	5,76	<0,0001
TRATAMIENTO	40557,21	13	3119,79	5,76	<0,0001
Error	53053,50	98	541,36		
Total	93610,71	111			

#### Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=40,01411

Error: 541,3622 gl: 98

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.		
TESTIGO ABSOLUTO	0,00	8	8,23	A	
PPADA	12,13	8	8,23	A	B
PPADM	13,00	8	8,23	A	B
PPEDM	16,38	8	8,23	A	B
PPEDB	19,50	8	8,23	A	B
PPADB	22,13	8	8,23	A	B
CPADA	24,63	8	8,23	A	B
PPEDA	25,50	8	8,23	A	B
CPEDM	35,63	8	8,23	A	B
CPADM	35,75	8	8,23	A	B
CPADB	37,38	8	8,23	A	B
CPEDA	44,13	8	8,23	B	C
CPEDB	48,38	8	8,23	B	C
TESTIGO INOCULADO	80,00	8	8,23		C

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

### ANEXO. 3 Análisis de varianza eficacia extractos vegetales contra *Fusarium oxysporum*

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
EFICACIA	84	0,61	0,55	44,21

Datos desbalanceados en celdas.

Para otra descomposición de la SC especifique los contrastes apropiados.. !!

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	40921,43	11	3720,13	10,36	<0,0001
TRATAMIENTO	40921,43	11	3720,13	10,36	<0,0001
Error	25842,86	72	358,93		
Total	66764,29	83			

#### Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=34,20638

Error: 358,9286 gl: 72

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.				
TESTIGO INOCULADO	sd	0	sd	A			
TESTIGO ABSOLUTO	sd	0	sd		B		
CPEDA	7,14	7	7,16			C	
CPEDB	15,71	7	7,16			C	D
CPEDM	22,86	7	7,16			C	D
CPADM	32,86	7	7,16			C	D E
CPADB	34,29	7	7,16			C	D E
CPADA	42,86	7	7,16				D E
PPEDA	44,29	7	7,16				D E F
PPEDB	45,00	7	7,16				D E F
PPADB	47,14	7	7,16				D E F
PPEDM	60,00	7	7,16				E F G
PPADA	77,86	7	7,16				F G

PPADM 84,29 7 7,16 G  
 Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**ANEXO. 4 Análisis de varianza área bajo la curva del progreso de la enfermedad, variable severidad.**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
ABCPE	42	0,98	0,98	8,27

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,64	13	0,05	132,08	<0,0001
Tratamiento	0,64	13	0,05	132,08	<0,0001
Error	0,01	28	3,7E-04		
Total	0,65	41			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,05760**

Error: 0,0004 gl: 28

Tratamiento	Medias	n	E.E.			
C. Neg.	0,00	3	0,01	A		
PPADA	0,10	3	0,01		B	
PPADM	0,11	3	0,01		B	
PPEDM	0,14	3	0,01		B	C
PPBDB	0,17	3	0,01			C D
PPADB	0,18	3	0,01			C D
CPADA	0,21	3	0,01			D
PPEDA	0,21	3	0,01			D
CPADM	0,30	3	0,01			E
CPEDM	0,31	3	0,01			E
CPADB	0,32	3	0,01			E
CPEDA	0,39	3	0,01			F
C. Pos.	0,40	3	0,01			F
CPEDB	0,43	3	0,01			F

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

**ANEXO. 5 Análisis de varianza área bajo la curva del progreso de la enfermedad, variable incidencia.**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
ABCPE	42	0,99	0,99	4,50

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1,79	13	0,14	368,77	<0,0001
Tratamiento	1,79	13	0,14	368,77	<0,0001



Error	0,01	28	3,7E-04
Total	1,80	41	

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,05777**

Error: 0,0004 gl: 28

Tratamiento Medias n E.E.

C. Neg.	0,00	3	0,01	A				
PPADM	0,18	3	0,01		B			
PPADA	0,25	3	0,01			C		
PPEDM	0,29	3	0,01			C		
PPADB	0,39	3	0,01				D	
PPBDB	0,39	3	0,01				D	
PPEDA	0,40	3	0,01				D	
CPADA	0,43	3	0,01				D	
CPADB	0,49	3	0,01					E
CPADM	0,49	3	0,01					E
CPEDM	0,58	3	0,01					F
CPEDB	0,61	3	0,01					F
CPEDA	0,67	3	0,01					G
C. Pos.	0,85	3	0,01					H

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