

# UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI



## FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

### ESCUELA DE DESARROLLO INTEGRAL AGROPECUARIO

#### INFORME DE INVESTIGACIÓN

Tema: “Evaluación del efecto in vitro de tres aceites esenciales, sobre la inhibición del crecimiento de *Phytophthora infestans*”

Trabajo de titulación previa la obtención del título de Ingeniera en Desarrollo Integral  
Agropecuario

AUTOR (a): Nathaly Yael Ramírez Alava.

TUTOR (a): Ing. Segundo Ramiro Mora Quilismal, M.Sc.

Tulcán-2019



## **CERTIFICADO JURADO EXAMINADOR**

Certificamos que la estudiante Nathaly Yael Ramírez Alava con el número de cédula 040177661-2 ha elaborado el trabajo de titulación: “Evaluación del efecto in vitro de tres aceites esenciales, sobre la Inhibición del crecimiento de *Phytophthora infestans*”

Este trabajo se sujeta a las normas y metodología dispuesta en el Reglamento de Titulación, Sustentación e Incorporación de la UPEC, por lo tanto, autorizamos la presentación de la sustentación para la calificación respectiva.

.....

Ing. Ramiro Mora. M.Sc.

.....

Ing. Marcelo Ibarra. M.Sc.

Tulcán, 28 de Enero del 2019

## **AUTORÍA DE TRABAJO**

El presente trabajo de titulación constituye requisito previo para la obtención del título de Ingeniera de la Facultad de industrias agropecuarias y ciencias ambientales

Yo, Nathaly Yael Ramírez Alava con cédula de identidad número 040177661-2 declaro: que la investigación es absolutamente original, autentica, personal. Los resultados y conclusiones a los que he llegado son de mi absoluta responsabilidad.

.....

Nathaly Yael Ramírez Alava

Tulcán, 28 de Enero del 2019

## **ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

Yo, Nathaly Yael Ramírez Alava declaro ser autora de los criterios emitidos en el trabajo de investigación: “Evaluación del efecto in vitro de tres aceites esenciales, sobre la Inhibición del crecimiento de *Phytophthora infestans*” y eximo expresamente a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

.....  
Nathaly Yael Ramírez Alava.

CI: 040177661-2

Tulcán, 28 de Enero del 2019

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios, por darme salud, vida y sabiduría para llegar a cumplir un logro más, junto a las personas que amo.

Doy gracias a mis padres Romeo Ramírez y Leida Alava, por su apoyo incondicional, formación y guía, por enseñarme que los éxitos los construye uno mismo.

Gracias hermano Kevin Ramírez, compañero y apoyo incondicional, quien ha estado a cada paso a lo largo de mi formación profesional y personal.

Gracias familiares y amigos que me apoyaron frente a los obstáculos, que me enseñaron que con esfuerzo, paciencia y constancia todo es posible para llegar a la meta

Así mismo expreso gratitud a mis profesores, especialmente mi tutor Ing. Agr. Ramiro Mora que me brindó su guía para un adecuado desarrollo de mi investigación, motivándome siempre a ser mejor.

## **DEDICATORIA**

Mi trabajo se lo dedico a Dios, por bendecir los pasos que me permitieron lograr un objetivo más.

A mis padres y hermano por el esfuerzo que realizan día a día para contribuir en mi formación profesional para brindarme un futuro mejor.

A mis amigos y familiares por su confianza y apoyo, en cada paso para alcanzar un objetivo más en mi vida profesional.

Con Cariño Nathaly

## ÍNDICE

CERTIFICADO JURADO EXAMINADOR .....	i
AUTORÍA DE TRABAJO .....	ii
ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DEL TRABAJO DE TITULACIÓN .....	iii
AGRADECIMIENTO .....	iv
DEDICATORIA .....	v
RESUMEN.....	x
ABSTRACT.....	xi
INTRODUCCIÓN .....	xii
I. PROBLEMA .....	1
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	1
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA .....	1
1.3. JUSTIFICACIÓN.....	2
1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN .....	2
1.4.1. Objetivo General .....	2
1.4.2. Objetivos Específicos.....	3
1.4.3. Preguntas de Investigación.....	3
II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	4
2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS .....	4
2.2. MARCO TEÓRICO.....	5
2.2.1. Tizón Tardío ( <i>Phytophthora infestans</i> ) Origen y distribución.....	5
2.2.2 Aceites esenciales .....	14
2.2.3. Aceite esencial de Tomillo ( <i>Thymus vulgaris</i> ) .....	16
2.2.4 Aceite esencial de Orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ) .....	16
2.2.5 Aceite esencial de Menta ( <i>Mentha piperita</i> ).....	17
2.2.6. Modo de acción Timol y carvacrol .....	17
2.2.7. Modo de acción Mentol .....	17
2.3. Variedad Capiro .....	17
2.4. Variedad Súper chola.....	18
III. METODOLOGÍA .....	19
3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO.....	19
3.2. HIPÓTESIS O IDEA A DEFENDER .....	20

3.3. VARIABLES EVALUADAS.....	20
3.4. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES .....	21
3.5. MÉTODOS UTILIZADOS .....	23
3.5.1. Siembra del Hongo .....	23
3.6. Caracterización del ensayo .....	25
3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	25
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	27
4.1. RESULTADOS.....	27
4.1.1. Porcentaje de control de <i>Phytophthora Infestans</i> bajo 3 aceites esenciales y un testigo comercial en dosis baja, media y alta a los 17 días de observación .....	27
4.1.2. Desarrollo de micelio en las dos variedades de papa (Super chola y Capiro).....	28
4.1.3. Prueba de distribución de datos (prueba de normalidad).....	30
4.1.4. Análisis factorial y prueba de Tukey a los 3 días de observación posterior a la siembra del hongo. 30	
4.1.5. Análisis factorial y prueba de Tukey a los 7 días de observación posterior a la siembra del hongo. 31	
4.1.6. Análisis factorial y prueba de Tukey a los 11 días de observación posterior a la siembra del hongo.....	32
4.1.7. Análisis factorial y prueba de Tukey a los 17 días de observación posterior a la siembra del hongo.....	33
4.1.8. Análisis económico (costos) .....	34
4.2. DISCUSIÓN .....	35
V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	38
5.1 Conclusiones .....	38
5.2. Recomendaciones .....	39
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	40
VII. ANEXOS.....	46

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía de <i>Phytophthora infestans</i> .....	7
Tabla 2 Operación de Variables.....	21
Tabla 3. Dosificación de los aceites utilizados en cada tratamiento.....	24

Tabla 4. Porcentaje de control de <i>Phytophthora infestans</i> bajo 3 aceites esenciales y un testigo comercial en dosis baja, media y alta a los 17 días de observación.....	27
Tabla 5. Eficiencia de control del hongo en los 17 días de observación .....	29
Tabla 6. Prueba de normalidad Shapiro-Wilk aplicado .....	30
Tabla 7. Análisis factorial Aceites*Dosis a los 3 días de observación .....	30
Tabla 8. Análisis Factorial Aceites*Dosis a los 7 días de observación .....	31
Tabla 9. Análisis Factorial Aceites*Dosis a los 11 días de observación .....	32
Tabla 10. Análisis Factorial Aceites*Dosis a los 17 días de observación .....	33
Tabla 11. Análisis económico por tratamiento aplicado.....	34

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquematación de las clases en el reino eucariota. Fuente: (Pérez, 2014) .....	8
Figura 2. Ciclo de vida <i>Phytophthora infestans</i> . Fuente: (AGRIOS, 2005) .....	10
Figura 3. Micelio blanquecino en el envés de las hojas (Pérez, 2014). .....	11
Figura 4. Lesiones alargadas de color marrón oscuro. Fuente: (Pérez, 2014) .....	12
Figura 5. Estrías necróticas. Fuente: (Pérez, 2014).....	12
Figura 6. Tubérculo de Capiro. Fuente: (INIAP, 1998).....	18
Figura 7. Tubérculo de Súper chola. Fuente: (INIAP, 1998).....	18
Figura 8. Distribución de tratamientos y repeticiones .....	26
Figura 9. Crecimiento del hongo en la variedad Capiro a los 17 días .....	28
Figura 10. Crecimiento del hongo en la variedad Súper chola a los 17 días. ....	29
Figura 11. Desarrollo del Hongo de <i>P. infestans</i> a los 3 días con los 12 tratamientos aplicados .....	31
Figura 12. Desarrollo del Hongo de <i>Phytophthora infestans</i> a los 7 días con los 12 tratamientos aplicados.....	32
Figura 13. Desarrollo del Hongo de <i>Phytophthora infestans</i> a los 11 días con los 12 tratamientos aplicados.....	33
Figura 14. Desarrollo del Hongo de <i>Phytophthora infestans</i> a los 11 días con los 12 aceites aplicados.....	34

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Hongo de <i>P. infestans</i> proliferado.....	46
Anexo 2. Placas sembrado el micelio de <i>P. infestans</i> .....	46
Anexo 3. <i>Mentha piperita</i> 3 días posterior a la siembra.....	46
Anexo 4. <i>Origanum vulgare</i> 3 días posteriores a la siembra.....	47
Anexo 5. <i>Thymus Vulgaris</i> 3 días posteriores a la siembra .....	47
Anexo 6. Control 3 días posteriores a la siembra .....	47
Anexo 7. Tratamientos: Fase inicial- Fase final .....	48

## RESUMEN

Entre los factores que limitan la producción del cultivo de papa se encuentran los problemas fitopatógenos, siendo el más relevante la presencia del hongo de Tizón tardío (*Phytophthora infestans*) que es generalmente conocido como “Lancha”. En misión de combatir la enfermedad se da lugar al uso excesivo de fungicidas de síntesis química que afecta directamente a la producción final, rentabilidad y calidad del tubérculo (Chauca, 2012). Por ello el presente estudio está enfocado en la evaluación del efecto in vitro de tres aceites esenciales, orégano (*Origanum vulgare*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y menta (*Mentha piperita*) sobre la inhibición del crecimiento de *Phytophthora infestans*, los mismos que fueron evaluados en tres dosis, baja 100µl/10ml, media 200µl/10ml y alta 300µl/10ml mediante la siembra del patógeno en 10 ml de medio Agar-Malta-Antibiótico. Las placas se conservaron por un lapso de 20 días, sin fotoperiodo y a una temperatura constante de 20 °C, basado en la metodología de Núñez (2010), la toma de datos inició al tercer día de realizada la siembra del hongo con la aplicación de los aceites y un testigo comercial (fungicida a base de ortiga). Las variables evaluadas fueron el crecimiento del micelio a los 3, 7, 11 y 17 días después de la siembra, el modo de acción de los aceites y la dosis de control más efectiva, donde los aceites de tomillo (*Thymus vulgaris*) y orégano (*Origanum vulgare*) presentaron efecto fungicida y fungistático en todas las dosis aplicadas con un porcentaje de control de 88% aproximadamente. El aceite de menta (*Mentha piperita*) y el control (ortiga) inhibieron el desarrollo del micelio de *Phytophthora infestans* en un porcentaje entre 52 a 72%, siendo más factible las dosis altas en estos tratamientos. En base al análisis económico realizado, se resalta la eficiencia del tratamiento T4 (orégano 100µl) que presentó un índice de control significativo (88,24%) con un costo moderado de \$2,51.

**Palabras clave:** Aceites, Orégano, Menta, Tomillo, Tizón Tardío.

## ABSTRACT

Among the factors that limit the production of the potato crop are the phytopathogenic problems, the most relevant being the presence of the “Tizón tardío” fungus (*Phytophthora infestans*) that is generally known as "Lancha". In order to combat the disease, excessive use of chemical synthesis fungicides that directly affects the final production, profitability and quality of the tuber occurs (Chauca, 2012). Therefore, the present study is focused on the evaluation of the in vitro effect of three essential oils, oregano (*Origanum vulgare*), thyme (*Thymus vulgaris*) and mint (*Mentha piperita*) on the inhibition of the growth of *Phytophthora infestans*, the same ones that were evaluated. In three doses, low 100µl/ml, medium 200µl/10ml and high 300µl/10ml by sowing the pathogen on Agar-Malta-Antibiotic medium. The plates were kept for a period of 20 days, without photoperiod and at a constant temperature of 20 °C, based on the methodology of Núñez (2010), the data collection began on the third day of the sowing of the fungus with the application of the oils and a commercial control (fungicide based on nettle). The variables evaluated were the growth of the mycelium at 3, 7, 11 and 17 days after sowing, the mode of action of the oil and the most effective control dose, where the oils of thyme (*Thymus vulgaris*) and oregano (*Origanum vulgare*) presented a fungicidal and fungistatic effect in all doses applied with a control percentage of approximately 88%. Mint oil (*mentha piperita*) and control (stinging nettle) inhibited the development of *Phytophthora infestans* mycelium in a percentage between 52 to 72%, with high doses being more feasible in these treatments. Based on the economic analysis carried out, the efficiency of the T4 treatment (oregano 100µl) that showed a significant control index (88.24%) with a moderate cost of \$ 2.51 is highlighted.

**Key words:** Oils, Oregano, Mint, Thyme, “Tizón tardío”.

## INTRODUCCIÓN

Una gran variedad genética de papa (*Solanum tuberosum L.*) silvestre y domesticada se ubica en la región andina de Sudamérica. El cultivo de papa en Ecuador se evidencia en tres zonas específicas; zona norte (Carchi e Imbabura) zona central las provincias de Bolívar, Chimborazo, Cotopaxi y Tungurahua en la zona sur las provincias de Loja, Azuay y Cañar (Pumisacho, 2002).

La lancha o tizón tardío causada por *P. Infestans* (Mont) de Bary, es la enfermedad más relevante que afecta el cultivo de papa (*Solanum tuberosum L.*) causando estragos a nivel mundial. En varias ocasiones esta enfermedad a alcanzado mayores proporciones y consecuencias desastrosas. Sin embargo aunque existe una gran cantidad de conocimiento sobre la enfermedad, la lancha sigue siendo uno de los principales factores que afectan la productividad de los cultivares de papa (Henfling, 1987), obligando a los productores a tomar controles fitosanitarios con productos de síntesis químico en dosis y aplicaciones excesivas. Según datos obtenidos por investigaciones de INIAP (1997) se realizaban de tres a dieciocho aplicaciones de fungicidas durante el ciclo del cultivo de papa, esto dependiendo de la zona en donde se encuentre, causando afecciones severas en la salud y contaminación del ambiente, además de elevar el costo de producción por costos de mano de obra e insumos.

En el área agrícola el uso de compuestos naturales como los aceites esenciales para controles de plagas y enfermedades no es exactamente algo nuevo, al haber iniciado luego de la domesticación de plantas, pero fueron excluidos al presentarse la eficiencia de los fungicidas sintéticos, su fácil uso e incluso precios bajos. Sin embargo en la actualidad se han presentado restricciones en el uso de ciertos productos químicos al causar daño en la salud, el ambiente e incluso provocar resistencia en ciertos patógenos (Pérez, 2015).

El presente trabajo se a enfocado a evaluar el comportamiento tres aceites esenciales frente al patógeno de *Phytophthora infestans* con fines de combatir la enfermedad, en condiciones In Vitro.

## **I. PROBLEMA**

### **1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En la provincia del Carchi, se evidencia que el ataque de lancha (*P. infestans*) en los cultivos de papa (*Solanum tuberosum*), ha sido bastante severo, esto ocasionado por las condiciones ambientales de la zona que se tornan muy favorables para el desarrollo del patógeno, la enfermedad se desarrolla favorablemente entre 2800 y 3400 msnm, con temperaturas moderadas entre 12 a 18 °C, altas humedades relativas (lluvias tempranas y soles intensos en la tarde) sin excluir problemas por variedades muy susceptibles a la enfermedad (Pumisacho, 2002). La lancha ataca a los cultivares de papa en cualquiera de sus fases fenológicas, provocando daños en hojas, tallos y tubérculos. Al cabo de pocos días el patógeno puede proliferarse y perjudicar a la plantación del tubérculo. Esta enfermedad ocasiona pérdidas de la producción final en un 40 a 70% (Donaire, 2006).

El uso excesivo de productos sintéticos presenta efectos adversos como es la resistencia del patógeno (*P. infestans*) alterando sus características morfológicas y fisiológicas. La aplicación de un control químico en un cultivo de papa representa entre el 7 y 10 % de la inversión total (Ñústez, 2010). Además de afectar directamente a la producción final, rentabilidad y calidad del tubérculo (Chauca, 2012). El costo de producción de una hectárea de papa según MAGAP, (2014) fue de USD 4.986,57 en donde el control fitosanitario representó el 15,74% de la inversión total debido a que el cultivo es susceptible a variedad de plagas y enfermedades, lo que además incluye un 13,86% de mano de obra para los controles fitosanitarios.

### **1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

La presencia de ataques severos por lancha (*Phytophthora infestans*) en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) disminuye la calidad del tubérculo, y afecta la rentabilidad de la producción final.

### **1.3. JUSTIFICACIÓN**

El estudio in vitro de aceites esenciales con efecto fungicida y/o fungistático sobre patógenos ha dado resultados favorables, presentando beneficios como; ser bioactivos y/o líquido y así permitir diferentes formas de aplicación, además son efectivos en dosis bajas, dejan baja residualidad y corta duración (Pérez, 2015). Por lo que el objetivo principal del presente estudio es evaluar la dosis y el tipo de aceite más apropiado para el combate de la enfermedad.

Los aceites de Tomillo (*Thymus vulgaris*) Orégano (*Origanum Vulgare*) presentan efecto fungicida por la presencia de compuestos como carvacrol y timol en proporciones de 80 y 60% respectivamente. El aceite de Menta (*Mentha piperita*) presenta el compuesto denominado mentol, que es el responsable de su efecto desinfectante (Winward, 2007).

Con la finalidad de disminuir costos y evitar pérdidas en los cultivos de papa (*S. tuberosum*), se emplea un método de control natural, de tal manera que el agricultor obtenga mayor rentabilidad, mejore la calidad de sus productos y evite afecciones a la salud humana y daños ambientales (Guamarrigra, 2016).

Reducir los efectos tóxicos de los fungicidas sobre la población humana a sido motivo de desarrollo de nuevas alternativas para mitigación de la enfermedad *P. infestans*, sin embargo los mecanismos de empleo de fungicidas sintéticos, son valorados hasta la fecha (Plenge, 2007).

### **1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN**

#### **1.4.1. Objetivo General**

Evaluar el efecto In Vitro de tres aceites esenciales para inhibición de crecimiento del hongo *Phytophthora infestans*.

#### **1.4.2. Objetivos Específicos**

- Evaluar la dosis más efectiva de los tratamientos en estudio para el control de la enfermedad in vitro.
- Determinar el modo de acción de los tres aceites esenciales y mayor efecto en la inhibición del hongo in vitro.
- Establecer el mejor tratamiento para el combate de *P. infestans* en base al análisis económico.

#### **1.4.3. Preguntas de Investigación**

- ¿Puede alguno de los tres aceites esenciales tener un efecto inhibitorio frente al hongo de *Phytophthora infestans* in vitro?
- ¿Pueden ser los aceites esenciales considerados como un fungicida natural?

## II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

### 2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

En la actualidad la necesidad de producir alimentos más saludables y orgánicos, ha ido innovando para la obtención de los mismos, con la aplicación de controles fitopatógenos con elementos botánicos como menciona Bernal (2005) en la investigación con concentraciones de alcaloides de *Lupinus exaltatus* se evaluó su efecto fungicida de manera in vitro sobre hongos de *Alternaria solani*, *Rhizoctonia sonali* y *Fusarium oxysporum*. En donde se obtuvo controles del patógeno de hasta 92% con dosis de 2,500 ppm

El efecto fungicida de los aceites esenciales debido a su composición fue investigado en pruebas realizadas con cepas de *Fusarium oxysporum* por un lapso de ocho días midiendo el diámetro de la colonia y así determinar el porcentaje de crecimiento del micelio, arrojando resultados benéficos, resaltando el poder de acción del aceite de *Thymus vulgaris* con un control del 100% en concentraciones de 200, 250 y 300 µg/ml (Barrera, 2008).

La aplicación de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y orégano (*Origanum vulgare*) se aplicaron para combatir *Aspergillus flavus*. Los resultados determinaron que los dos aceites presentan efecto fungicida en condiciones controladas, con dosis de 1000ppm en aceites de orégano y 2000ppm en aceites de canela (García, 2006).

En la investigación de Alzate (2009) evalúa el modo de acción fungicida frente a *C. acutatum* con óleos esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*) y limoncillo (*Cymbopogon citratus*) en donde prevalecen compuestos como timol y citral respectivamente. Los resultados establecieron su poder de inhibición, en el timol 125 mg.L<sup>-1</sup> y citral 300 mg.L<sup>-1</sup> esto por un lapso de 11 días.

Como menciona Núñez (2010) actualmente el avance en el conocimiento del patógeno del tizon tardío (*Phytophthora infestans*) a dado lugar a investigaciones para crear resistencia a la enfermedad mediante mejoramiento genético, con variedades resistentes, además la aplicación de extractos naturales se a convertido en una opción viable para el combate del patógeno.

En estudios bibliográficos se menciona el trabajo con aceites de hojaseñ (*Flourensia cernua* DC.), mejorana (*Origanum majorana* L.) y trompetilla (*Bouvardia ternifolia*), los tres aceites presentaron efecto inhibitorio en el crecimiento de *Rhizoctonia solani* desde dosis de 4000 a 20000 ppm, con un porcentaje de control de 86.2%, 67.2% y 34.9% respectivamente (Saldívar, 2002).

Según Hernández (2007) en condiciones in vitro los aceites esenciales detienen el crecimiento del patógeno, así como los procesos de esporulación, de tal manera que beneficia el control de enfermedades en los productos hortofrutícolas, sin embargo en prácticas in vivo el efecto de los aceites esenciales puede variar por el tipo de preparación, la especie botánica, órgano de la planta, época de recolección entre otras.

## **2.2. MARCO TEÓRICO**

### **2.2.1. Tizón Tardío (*Phytophthora infestans*) Origen y distribución**

El agente causal del “Tizón Tardío” (*Phytophthora infestans*), es el resultado de mutaciones de enfermedades que afectan a *Solanum tuberosum*, esto se da por medio de su tejido foliar. Desde 1950 algunos autores mencionan que el Valle de Toluca en México podría ser visto como el lugar de origen de esta enfermedad, y esto se ha complementado al encontrar los grupos de compatibilidad A1 y A2, y el alto nivel de complejidad genética que estas presentan (Goodwin, 1992).

Eventualmente, el Patógeno fue evolucionando en especies silvestres de *Solanum*, hasta que en el siglo XIX cultivos de papa y tomate fueron introducidos a México, traídos de jardines botánicos de la ciudad de Nueva York. La exportación de tubérculos de papa a Europa en 1840

dio lugar a *P. infestans* en Irlanda donde su población dependía del consumo de papa por alrededor de 200 años. El clima de esta zona condicionó el desarrollo del patógeno, y entre los años 1845 y 1846 una severa epidemia de Tizón Tardío destruyó por completo plantaciones de papa (Goodwin, 1992).

La teoría de Morren describió el género *Botrytis infestans*, en la actualidad *Phytophthora infestans*, que fue corroborada por Anthony de Bary (Ribeiro, 1998). La teoría acerca del origen de *P. infestans* se propuso por primera vez por Berkeley y de Bary, y esta fue identificada en las regiones andinas de Sudamérica como lugar de origen del hongo, esta teoría ha sido validada por evidencias científicas, al encontrar resistencia en especies silvestres de solanáceas y especies cultivadas en los Andes sudamericanos.

Alrededor de los años 80's el Centro Internacional de la Papa inició un programa de investigación frente a Tizón tardío en los andes sudamericanos, con resultados preocupantes al identificar una gran cantidad de hospedantes en Ecuador y Perú (Ordoñez, 1999). Y ataques agresivos en zonas de Colombia (Vásquez, 2017).

*P. infestans* ha migrado desde su lugar de origen a todo el mundo en cultivos de tomate y papa. El tipo A1 fue el único que se diseminó alrededor del mundo por 130 años hasta que el tipo A2 en 1970 migró a Europa por medio de importaciones de papa, desplazándose hasta poblaciones de Asia (Goodwin, 1992).

Hasta la actualidad las investigaciones sobre la etiología, epidemiología y control de este patógeno han ido incrementando, aún más luego de la aparición del tipo A2 en Europa en 1984. El desarrollo de nuevas tecnologías y equipos permiten el estudio de la genética del hongo, y así establecer el nivel de riesgo en los cultivos de papa, debido a la mutación del patógeno presenta resistencia a fungicidas sistémicos, mayor índice de virulencia, y presencia de oosporas para la reproducción sexual del patógeno en nuevas zonas agrícolas (Pérez, 2014).

### 2.2.1.1. Taxonomía

La clasificación taxonómica del hongo de *Phytophthora infestans* se ve establecida de la siguiente manera:

---

**Tabla 1.** Taxonomía de *Phytophthora infestans*

Reino: *Protista*

División: *Heterokontophyta*

Clase: *Oomycetes*

Orden: *Peronosporales*

Familia: *Pythiaceae*

Género: *Phytophthora*

Especie: *Phytophthora infestans* Mont. de Bary

---

Fuente: (Martínez, 2006)

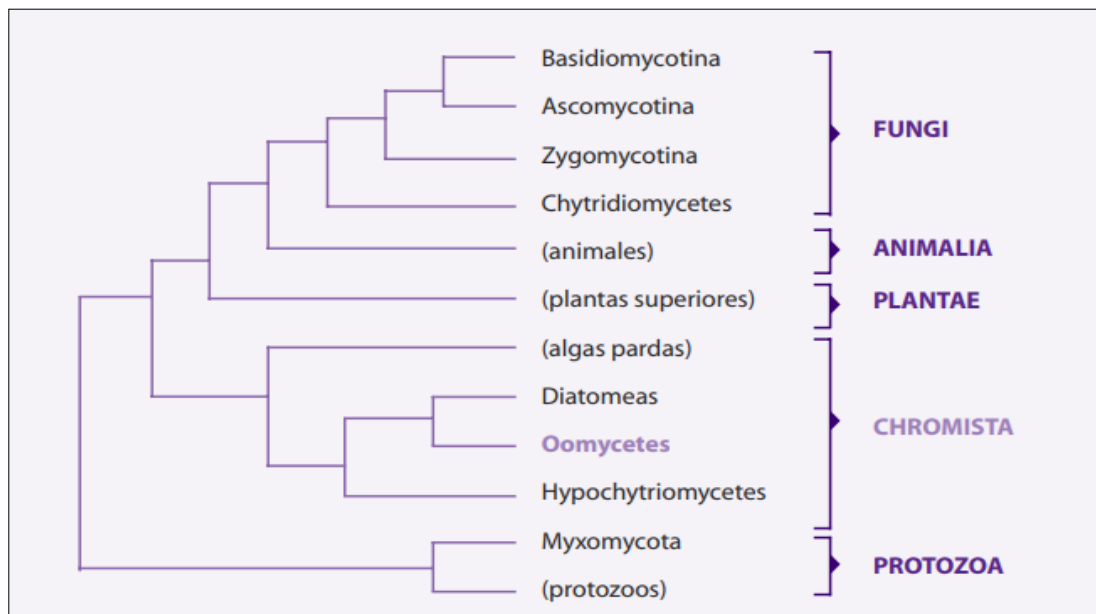
El hongo de *P. infestans* presenta hilos fungosos (micelio). Estos se caracterizan por carecer de tabiques transversales (septas). El micelio se desarrolla entre las células y solo sus extensiones (haustorios) entran a las células. La reproducción se da tanto de manera sexual (generativa) y asexual (vegetativa) (Henfling, 1987). En la clase oomycetes su pared celular contiene mayoritariamente celulosa y  $\beta$ -glucanos y carecen de la capacidad de sintetizar los esteroides (Pérez, 2014).

La lancha es la enfermedad que provoca más daños en los cultivos de papa del país, las condiciones óptimas para su desarrollo se da en alturas entre los 2.800 y los 3.400 msnm, en ambientes favorables y sin protección la enfermedad puede destruir al hospedero en una semana e incluso menos, es por eso que los costos de producción se elevan por consecuencia de los controles fitopatógenos, las condiciones climáticas de la sierra ecuatoriana favorecen la diseminación de la enfermedad en temperaturas entre 12 y 18°C, humedad relativa alta, lluvia matinal y tardes soleadas, variedades susceptibles sembradas agravan el proceso de control de la enfermedad (Pumisacho, 2002).

### 2.2.1.2. Morfología

Las características que diferencian el género *Phytophthora* de los hongos se fundamentan en la forma de las crestas mitocondriales (tubulares) y la composición de sus paredes celulares, en lugar de quitina contienen  $\beta$ -1,3-glucano junto con microfibrillas de celulosa (Ribeiro, 1998).

*Phytophthora infestans* es un organismo perteneciente al filo Oomycota (ver fig. 1) al Reino Protista (Cromista), agrupa a más de 700 especies, las cuales se caracterizan por poseer dos flagelos en las zoosporas, no contienen pigmentos fotosintéticos, presentan paredes formadas por celulosa o polímeros similares a la celulosa, hábitos acuáticos y terrestres, aunque siempre necesitan la presencia del agua (Ribeiro, 1998). Por sus formas filamentosas parecidas a hifas, este organismo se agrupó originalmente con el grupo de los hongos dentro del Reino Fungi, pero luego se confirmó mediante las filogenias moleculares de las cadenas de RNA ribosomal, que los Oomycetes obtuvieron la habilidad de contaminar las plantas de forma autónoma de los hongos verdaderos (Kamoun, 2011).



**Figura 1.** Esquematación de las clases en el reino eucariota. Fuente: (Pérez, 2014)

### 2.2.1.3. Ciclo de Vida de *Phytophthora infestans*

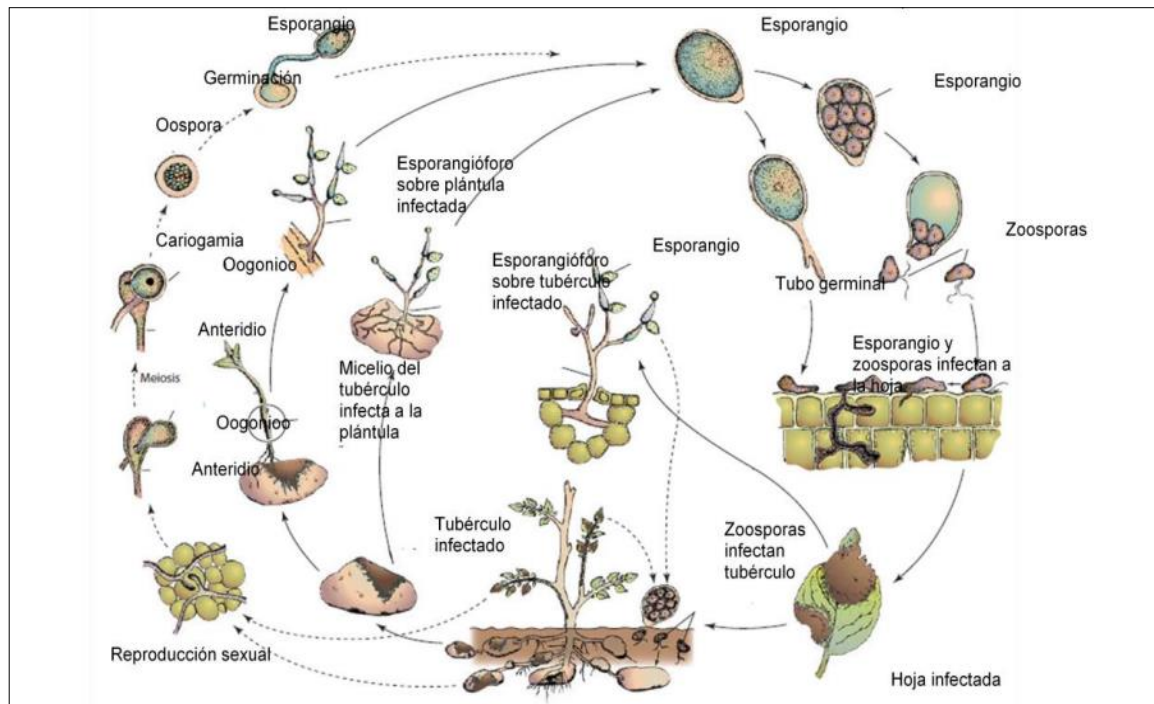
- **Fase asexual**

En condiciones húmedas y de temperaturas bajas, los esporangios brotan de forma indirecta y producen entre 8 a 12 zoosporas con un núcleo y dos flagelos. Las zoosporas se crean en el interior del esporangio y son expulsadas al romperse la pared esporangial, permitiendo así su diseminación. Las Zoosporas poseen dos flagelos uno que es alargado y a manera de cuerda, mientras que el otro es corto. En un medio húmedo pueden desarrollar un tubo germinativo y penetrar las hojas a través de los estomas, o formar el apresorio, con la finalidad que la hifa llegue directamente a través de la cutícula (Pérez, 2014).

Luego de haber ingresado a la planta, el micelio crece formando haustorios dentro de la células. Si las condiciones climáticas son favorables con temperaturas alrededor de 15°C, los esporangios presentan germinación directa con la formación del tubo germinativo penetrando la epidermis de la hoja para infectar al hospedante (Pérez, 2014). Fig 2.

- **Fase sexual**

Los gametangios se forman en dos hifas separadas, por lo que *P. infestans* es heterotálico. Así, ambos tipos de apareamiento A1 y A2, deben estar presentes para que ocurra la reproducción sexual. La unión de los gametos ocurre cuando el oogonio traspasa el anteridio y sucede la plasmogamia. Esto lleva a la fecundación y al desarrollo de una oospora con paredes celulares gruesas. La oospora es fuerte y puede sobrevivir en los rastrojos (Pérez, 2014). Fig. 2.



**Figura 2.** Ciclo de vida *Phytophthora infestans*.

Fuente: (AGRIOS, 2005)

#### 2.2.1.4. Variabilidad genética

El estudio de estas variaciones se da lugar para determinar los procesos evolutivos que afectan a esta especie. Las posibles causas de variación de *P. infestans* son reproducción sexual, mutaciones, y traslado a otras zonas (Pérez, 2014). Los indicadores más manejados para determinar las poblaciones de este patógeno han sido la virulencia y tipo de apareamiento. La virulencia hace referencia a la habilidad genética de una raza de *P. infestans* para vencer las defensas del hospedante causando una reacción de afinidad, es decir se da lugar a la enfermedad.

El tipo de apareamiento viene a ser un tipo de compatibilidad necesario para dar inicio al proceso de reproducción sexual en especies heterotálicas. El hallazgo del tipo A2 fuera del valle de Toluca en México, considerado por la mayoría de los investigadores como el centro de origen del patógeno, fue la primera evidencia de cambios en la población de *P. infestans* a nivel mundial, el cuál era hasta ese entonces de origen asexual. A la fecha se ha reportado el grupo

de apareamiento A2 en casi todo el mundo. La resistencia a fungicidas en el patógeno se establece por una menor sensibilidad que la normal a dichos productos. Esta resistencia es consecuencia de mutaciones estables y heredables (Pérez, 2014).

#### 2.2.1.5. Síntomas

- Hojas

Se presentan manchas de color café claro a oscuro, con apariencia húmeda, las machas son de forma irregular y a veces presentan un halo amarillento. Estos síntomas se evidencian especialmente en las orillas y puntas de las hojas. En condiciones con alta humedad en la cara inferior (envés) de las hojas se forman vellosidades de color blanco (esporangioforos y esporangios) (Fig.3). Los daños ocasionados se difunden de manera acelerada, se tornan de un marrón oscuro, se necrosan y el tejido afectado muere. A campo abierto las plantas enfermas emiten un olor propio de la descomposición del tejido foliar (Pérez, 2014).



**Figura 3.** Micelio blanquecino en el envés de las hojas (Pérez, 2014).

- Tallos y peciolo

Lesiones necróticas con longitudes de 5 a 10 cm, de color café a negro ubicadas en la parte superior de la planta, con una consistencia rígida y dura (Fig. 4) cuando la enfermedad se

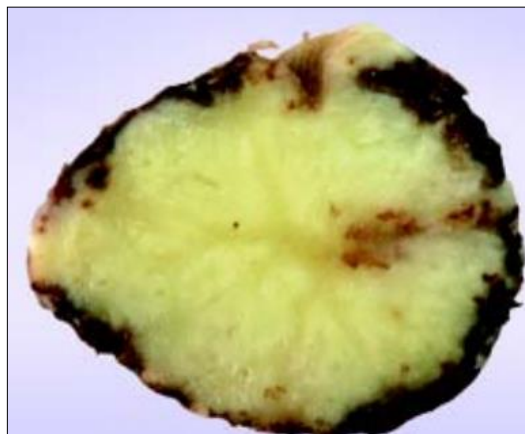
disemina en todo el diámetro del tallo estos son propensos a quiebres al paso del personal, maquinaria o vientos fuertes (Pérez, 2014) Fig. 4.



**Figura 4.** Lesiones alargadas de color marrón oscuro.  
Fuente: (Pérez, 2014)

- Tubérculos

Los tubérculos infectados presentan zonas irregulares, algo hundidas. La epidermis se torna marrón (Fig. 5). Con un corte transversal se puede observar prolongaciones hacia la parte interna del tubérculo. En un estado avanzado provoca apariencia putrefacta con posibilidad de una infección secundaria por otros hongos (*Fusarium spp.*) y bacterias (*Erwinia spp.*, *Clostridium spp.* etc.), provocando la desintegración del tubérculo y haciendo difícil el diagnóstico (Pérez, 2014).



**Figura 5.** Estrías necróticas. Fuente:  
(Pérez, 2014)

### **2.2.1.6. Epidemiología**

Las yemas formadas a partir de los tubérculos infectados establecen el inóculo inicial, el micelio crece a través del tallo y llega a la superficie del suelo. Cuando el micelio llega a las partes aéreas de la planta, se forman los esporangios que se diseminan por medio de vientos o agua a las plantas adyacentes (Pérez, 2014).

El tubo germinativo penetra a través del estoma y forma un micelio intercelular. Al paso de unos días luego de producirse la infección (en condiciones favorables) emergen nuevos esporangióforos a través de los estomas para infectar a las plantas vecinas (Pérez, 2014).

La inoculación también puede darse a través de heridas o lenticelas. Dentro del tubérculo se forman los haustorios utilizando el contenido de las células como alimento. Las infecciones pueden darse en la cosecha si los tubérculos son expuestos a follaje contaminado o a esporangios presentes en el suelo. La pudrición se debe a una infección secundaria, condiciones inadecuadas de almacenamiento y micelio sobreviviente en el suelo hasta la nueva siembra (Pérez, 2014).

El tizón tardío es común en zonas con temperaturas entre 15 y 22°C y humedad relativa mayor al 80%. El patógeno, se transmite a través de semillas y puede sobrevivir en forma de micelio en otras plantas cultivadas o arvenses de la familia de las solanáceas, o en residuos de cosecha, que permanecen en el suelo (Jaramillo, 2007).

Los ataques de lancha son más graves en países con altos porcentajes de humedad y la escasez de recursos económicos que restringen la capacidad de los productores para el combate de este patógeno. Problemas como diseminación rápida del patógeno y la resistencia a fungicidas sintéticos ha dado como resultado que la lancha sea la causa más limitante y costosa de la producción alimentaria mundial (Huarte, 2001).

El tizón tardío de la papa, en la actualidad es la enfermedad más grave que se presenta en la provincia del Carchi y a nivel mundial. Los agricultores de Carchi ponen en práctica dos tipos de control; la aplicación de fungicidas químicos y utilización de variedades con resistencia a la enfermedad. El hongo se desarrolla bien en condiciones frescas y húmedas como aquellas encontradas en la provincia del Carchi (Yaggen, 2003).

### **2.2.2 Aceites esenciales**

Son sustancias concentradas extraídas naturalmente de plantas. En general se definen como mezclas etéreas, productos del metabolismo secundario de las plantas, alrededor de 60 a 80 familias del reino vegetal producen aceites esenciales, en familias como: compuestas, labiadas, lauráceas, mirtáceas, rosáceas, rutáceas, umbelíferas, pináceas (SENA, 2012).

Habitualmente son destilados por arrastre de vapor de agua. Los aceites esenciales generalmente son mezclas complejas de hasta más de 100 componentes que pueden ser:

- Compuestos cíclicos de bajo peso atómico (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos).
- Monoterpenos.
- Sesquiterpenos.
- Fenilpropanos (SENA, 2012).

#### **2.2.2.1. Clasificación de los aceites esenciales**

De acuerdo con su consistencia los aceites esenciales se clasifican en esencias fluidas, bálsamos y oleorresinas. Las esencias fluidas son líquidos volátiles a temperatura ambiente. Los Bálsamos son de consistencia más espesa, son poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización. Las Oleorresinas poseen un aroma muy concentrado son viscosos o sustancias semisólidas (Martínez, 2003).

En base al origen los aceites esenciales se clasifican como naturales, artificiales y sintéticos. Los naturales son extraídos directamente de la planta y no pasa por alteraciones químicas o físicas. Los artificiales se obtienen enriqueciendo una sustancia con otro compuesto. Los aceites esenciales sintéticos son producidos mediante síntesis química (Martínez, 2003).

#### **2.2.2.2. Principales propiedades físicas**

Los aceites esenciales con capacidad volátil, liposolubles, solubles en alcohol, éter entre otros, pero insolubles en agua, son inflamables. Su densidad es inferior a la del agua, compuestos por hidrocarburos (compuestos oxigenados) (SENA, 2012).

#### **2.2.2.4. Principales propiedades organolépticas**

La calidad y pureza de los aceites esenciales varían debido al tipo de planta, estado del cultivo, tiempo de recolección, método de extracción y parte de la planta de donde será extraído.

La cantidad de principios activos (productividad) de las plantas medicinales y aromáticas están determinadas por los siguientes factores:

-Genético. Resultado del metabolismo secundario

-Ontogenético. Estado fenológico de la planta

-Ambiental. Condiciones ambientales, nutrición de la planta y plagas que hayan afectado el tejido vegetal (SENA, 2012).

#### **2.2.2.5.1. Destilación por arrastre de vapor**

La muestra de tejido vegetal habitualmente fresca y picada, se coloca en una cámara y sometida a una corriente de vapor de agua sobrecalentado, la esencia es condensada y recolectada. Esta técnica es la más empleada a nivel industrial por su alto rendimiento, conserva la pureza del aceite y no necesita de tecnología sofisticada (Martínez, 2003).

#### **2.2.2.6. Aceites esenciales en la industria fitosanitaria**

Los aceites esenciales se utilizan para el control de plagas, formando parte de compuesto de herbicidas, insecticidas, fungicidas, nematocidas y acaricidas (SENA, 2012).

En el área agrícola, el empleo de compuestos naturales (aceites esenciales) para el combate de plagas y enfermedades no es algo reciente. Pero fueron desconsiderados por la aparición de fungicidas sintéticos al ser eficientes, y de económicos, sin embargo actualmente se han pronunciado varias restricciones para el uso de estos productos al ser causantes de afecciones a la salud del productor y consumidor, daños en el ambiente e ineficiencia en su control al crear resistencia frente al patógeno (Faggiani, 2015).

#### **2.2.3. Aceite esencial de Tomillo (*Thymus vulgaris*)**

En su composición se encuentra el timol en concentraciones de hasta el 80%. Se comprueba además la presencia de carvacrol, gamma-terpineno y p-cimeno (precursor del timol). Los aceites esenciales derivados de las especies de *Thymus*, han sido registrados por su poder antibacteriano y antifúngico (Winward, 2007).

#### **2.2.4 Aceite esencial de Orégano (*Origanum vulgare*)**

La importancia del orégano crece al encontrar otras propiedades distintas a las tradicionales (alimentos, perfumería, y fármacos). Estudios actuales indican que el aceite de orégano ejerce poder inhibitorio sobre el crecimiento de hongos (Aranda, 2009).

Actualmente el uso de este aceite como antimicrobiano cuyos componentes principales son carvacrol y timol, que otorgan al orégano sus características asépticas, estimulantes, diuréticas, entre otras (Aranda, 2009).

### **2.2.5 Aceite esencial de Menta (*Mentha piperita*)**

Está compuesto por mentol (30-40% y en algunos casos más de 50%), mentona (15-25%), mentil acetato (4-10%), mentofurano, isomentona, carvona, pulegona, neomentol, piperitenona, jasmona, cineol, linalol e hidrocarburos variados (Colpa, 2016).

### **2.2.6. Modo de acción Timol y carvacrol**

Compuestos que poseen actividad antifúngica y antibacteriana. Estos compuestos han sido probados en variedad de microorganismos de importancia alimenticia, como por ejemplo; *Fusarium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Rhizobium leguminosarum*, *Salmonella thiphymurium*, *Vibrio vulnificus* y *Bacillus cereus*, entre otros (Ultee, 1998). El carvacrol y timol tienen varios sitios de acción esto dependiendo de su nivel de concentración utilizada, causando inhibición o inactivación de los microorganismos (Ultee, 1998).

### **2.2.7. Modo de acción Mentol**

En el caso del AE de *Mentha piperita*, la actividad fungistática fue producida por el mentol. Este terpeno oxigenado cíclico, es parcialmente soluble en agua lo que permite una mayor interacción en la fase lípido- agua de las membranas de los microorganismos, aunque los mecanismos de acción para inhibir el desarrollo fúngico no han sido elucidados (Ultee, 1998).

## **2.3. Variedad Capiro**

- Diacol Capiro proviene de cruzamientos con Tuquerreña (CCC 61) x 1967 (C) (9) (CCC751). Liberada en 1968.
- Periodo vegetativo: 4,5 a 6 meses, según la altitud del lugar donde se cultive
- Rendimiento comercial: 25 – 30 t/ha; predominan tubérculos grandes
- Materia seca: 22% (peso específico: 1,085)
- Azúcares reductores: 0,1%
- Periodo de reposo del tubérculo: dos a tres meses
- Enfermedades: susceptible a la Gota de la Papa (*Phytophthora infestans*) y Roña de la Papa (*Spongospora subterranea*).



**Figura 6.** Tubérculo de Capiro. **Fuente:** (INIAP, 1998).

#### **2.4. Variedad Súper chola.**

- Origen genético: [[[Curipamba negra x *Solanum demissum*]]x clon resistente con comida amarilla x chola seleccionada]]
- Subespecie: *andigena*
- Maduración: semitardía
- Rendimiento: 30 t/ha
- Contenido de materia seca: 24%
- Gravedad específica: 1,098
- Usos: consumo fresco, procesamiento (papas fritas)
- Follaje: tupido, crecimiento rápido, tallos firmes; hojas medianas que cubren bien el terreno.
- Enfermedades: muy susceptible a lancha (*P. Infestans*), moderadamente resistente a roya (*P. Pittieriana*) y tolerante al nematodo del quiste de la papa (*Globodera pallida*) (INIAP, 1998).



**Figura 7.** Tubérculo de Súper chola. **Fuente:** (INIAP, 1998).

### **III. METODOLOGÍA**

#### **3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO**

Cuantitativa: Se determinó las dosis más apropiadas para llevar a cabo un proceso inhibitorio del hongo (*Phytophthora infestans*), además de evaluar la concentración de los aceites para relacionarlo con su modo de acción.

Cualitativa: Investigación cualitativa al determinar, el mejor aceite empleado en el ensayo en base a su modo de acción.

Esta experimentación se llevó a cabo durante 45 días, en 25 días se dio lugar a la recolección de muestras de variedad Capiro y de variedad Súper chola, esterilización de material y la diseminación del patógeno en medios de cultivo (Agar- Malta-Antibiótico). El periodo en que los tratamientos fueron evaluados se llevó a cabo por un lapso de 20 días con revisiones y toma de datos en los, 3, 7, 11 y 17 días después de la siembra del patógeno.

##### **3.1.1 Investigación experimental**

La siguiente investigación fue tomada de Ñústez (2010), manteniendo ese protocolo para el proceso de experimentación aplicado en laboratorio. La fase de campo consta en la recolección de las muestras para la inoculación del hongo, de variedad Superchola, misma que fue tomada de un cultivo de seis meses de edad en fase de senescencia obtenida en el cantón Tulcán con una temperatura media de 11,8°C y una humedad relativa de alrededor de 88%) (Mora, 2012). La segunda muestra tomada fue de la variedad Capiro, de un cultivo de tres meses de edad (en fase de formación de estolones), obtenida en el cantón Bolívar, con una temperatura promedio de 14°C y humedad relativa promedio del 72% (Mora, 2012).

##### **3.1.2. Investigación de Gabinete**

Se recopiló información bibliográfica y de sitios web para fundamentación de la investigación y apoyo en la realización del proceso experimental.

### **3.1.3. Investigación correlacional**

Relaciona sus variables como son los aceites esenciales y la proliferación o crecimiento del hongo *Phytophthora infestans*, en el proceso de experimentación, para determinar sus comportamientos.

### **3.2. HIPÓTESIS O IDEA A DEFENDER**

**Hi:** La aplicación de aceites esenciales inhibe el crecimiento de *Phytophthora infestans*, en condiciones controladas (In Vitro).

**Ho:** La aplicación de aceites esenciales no inhibe el crecimiento de *Phytophthora infestans*, en condiciones controladas (In Vitro).

### **3.3. VARIABLES EVALUADAS**

#### **a) Crecimiento del Hongo:**

Se realizó la siembra de ejemplares de *P. infestans* con muestras obtenidas de las variedades Capiro y Superchola, la observación y medición del tamaño del micelio fue dada en cm, su tamaño se midió con un calibrador y los datos se obtuvieron a los 3, 7, 11 y 17 días después de la siembra.

#### **b) Dosis**

Se realizó la disolución de los aceites a ser aplicados en dosis baja 100µl/10ml de medio de cultivo, media 200 µl/10ml de medio de cultivo y alta 300 µl/10ml de medio de cultivo.

#### **c) Aceites**

Orégano: a los 11 días de inoculado el hongo con micropipeta se aplicó el aceite en las dosis media, baja y alta esto a ser evaluado por 17 días.

Tomillo: a los 11 días de inoculado el hongo con micropipeta se aplicó el aceite en las dosis media, baja y alta esto a ser evaluado por 17 días.

Menta: a los 11 días de inoculado el hongo con micropipeta se aplicó el aceite en las dosis media, baja y alta esto a ser evaluado por 17 días.

### 3.4. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

**Tabla 2** Operación de Variables

Hipótesis	Variable	Definición conceptual de la variable	Dimensión	Indicadores	Técnica	Instrumento
La aplicación de aceites esenciales inhibe el crecimiento In Vitro de <i>Phytophthora infestans</i>	<b>VD:</b> crecimiento in vitro de <i>Phytophthora infestans</i>	El hongo <i>Phytophthora infestans</i> , de la clase Oomicetes produce la enfermedad más importante del cultivo de papa conocida como tizón tardío.	<b>Siembra del hongo</b>	Siembra de muestras de <i>P. infestans</i> obtenidas de las variedades Capiro y Superchola, esto por un lapso de 11 días.	Observación del crecimiento del micelio en condiciones in vitro en un medio Agar-Malta-antibiótico a los 3, 7, 11 y 17 días después de la siembra	Muestra del patógeno
						Cámara de flujo laminar. Pipetas de 10ml. Pinzas. Cajas Petri de 10 cm de diámetro
			Siembra del patógeno en medio Agar (39g/l)-Malta (20g/l)-Antibiótico (0.4ml/l).	Observación macroscópica, medición del área.	Calibrador, Libreta de anotaciones, Cámara fotográfica	
	<b>VI:</b> Evaluación de tres aceites esenciales	Los aceites esenciales son sustancias volátiles, resultado de un metabolismo secundario. Utilizadas para repeler y controlar plagas, con ellos se preparan herbicidas, insecticidas, fungicidas,	<b>Dosificación de los aceites</b>	Disolución en alcohol absoluto (1ml de aceite/2ml de alcohol) por 10 minutos.	Identificación de la pureza del aceite empleado en base a la disolución.	Matraz aforado a 25 ml, Micropipeta.
				Aplicación de aceites en concentraciones baja 100µl, media 200 µl y alta 300 µl a los 11 días de inoculado el hongo.		Inoculación del patógeno en 10 ml de medio Agar-Malta-Antibiótico, se coloca el aceite respectivo por tratamiento.

		nematicidas, acaricidas.	<p><b>Orégano:</b> es muy eficaz para tratar enfermedades provocadas por hongos y levaduras.</p>	<p>Aplicación de aceites en concentraciones baja 100µl, media 200 µl y alta 300 µl a los 11 días de inoculado el hongo.</p>	<p>Inoculación del patógeno en 10 ml de medio Agar-Malta-Antibiótico, se coloca el aceite respectivo por tratamiento.</p>	<p>Cajas Petri de 10 cm de diámetro libreta de anotación, sellos de identificación, frascos autoclavables.</p>
			<p><b>Tomillo:</b> Sus compuestos activos el timol y el carvacrol son muy efectivos frente a bacterias y hongos.</p>	<p>Aplicación de aceites en concentraciones baja 100µl, media 200 µl y alta 300 µl a los 11 días de inoculado el hongo.</p>	<p>Inoculación del patógeno en 10 ml de medio Agar-Malta-Antibiótico, se coloca el aceite respectivo por tratamiento.</p>	<p>Cajas Petri de 10 cm de diámetro libreta de anotación, sellos de identificación, frascos autoclavables.</p>
			<p><b>Menta:</b> su Componente principales Mentol, funciona como fungicida e insecticida repele áfidos, moscas.</p>	<p>Aplicación de aceites en concentraciones baja 100µl, media 200 µl y alta 300 µl a los 11 días de inoculado el hongo.</p>	<p>Inoculación del patógeno en 10 ml de medio Agar-Malta-Antibiótico, se coloca el aceite respectivo por tratamiento.</p>	<p>Cajas Petri de 10 cm de diámetro libreta de anotación, sellos de identificación, frascos autoclavables.</p>

Elaborado por Ramírez N. (2018)

### **3.5. MÉTODOS UTILIZADOS**

#### **3.5.1. Siembra del Hongo**

El proceso de esterilización de material previo a ser utilizado en el laboratorio y dar paso a la siembra. La cristalería se envolvió en papel, y se esterilizó en la estufa a una temperatura de 180°C por el lapso de una hora (Pérez, 2010).

La esterilización de los medios de cultivo se realizó en autoclave, teniendo en cuenta la temperatura y puntos de fusión de cada uno de los aceites para evitar cambios en su composición.

Se usó el aislamiento de dos muestras de *Phytophthora infestans*, de papa variedad Súper chola, y de variedad Capiro, recolectados en el cantón Tulcán y cantón Bolívar respectivamente, estas muestras fueron sembradas en un medio Agar-Malta-Antibiótico (ver anexo 3). Se colocó en la incubadora a una temperatura de 20°C por un lapso de 11 días para su propagación.

Se realizó nuevamente la siembra del inóculo en medio Agar-Malta-Antibiótico (Agar 39g/l, E. Malta 20 g/l, antibiótico 0,4 ml/l) colocando una rodaja de 5mm de papa variedad súper chola y capiro (individualmente una en cada caja Petri) con el fin de activar la patogenicidad de la enfermedad.

Se colocó una rodaja de papa de 5mm en el centro de la caja Petri, seguido se tomó una muestra del hongo proliferado posteriormente y se colocó encima de la rodaja de papa, se selló la caja Petri y se llevó a la incubadora.

La siembra del patógeno (disco de 5 mm del inóculo diseminado) se colocó sobre la rodaja de papa de 5 mm. Se selló la caja Petri y se colocó en la incubadora para su evaluación. El crecimiento del hongo fue medido con un calibrador o pie de rey, con cuatro mediciones, a los tres, siete, once y diecisiete días después de la siembra y se evidenció el desarrollo mediante capturas fotográficas.

### 3.5.2. Aceites esenciales

Se usaron aceites esenciales comerciales en este caso de *Thymus vulgaris* (Young Living Essential oils), *Origanum vulgare* (Young Living Essential oils), *mentha piperita* (Naturales Casvior). El testigo comercial fue un fungicida natural elaborado a base de ortiga, (Remedios Ecológicos para la Pacha). Se realizó una disolución en alcohol absoluto, en relación 1ml aceite/2ml de alcohol. Anexo 6.

#### 3.5.2.1 Aplicación de los aceites

La metodología para la aplicación de los aceites previamente disueltos y el testigo comercial, consistió en colocar en el medio de cultivo las dosis baja 100µl, media 200µl y alta 300µl (ver tabla.3) en las unidades experimentales (caja Petri).

**Tabla 3.** Dosificación de los aceites utilizados en cada tratamiento

Tratamiento	Aceite (Código)	Dosis
T1	Menta	Baja: 100 µl/10ml de medio (agar-malta-antibiótico)
T2	Menta	Media: 200 µl/10ml de medio (agar-malta-antibiótico)
T3	Menta	Alta: 300 µl/10ml de medio (agar-malta-antibiótico)
T4	Orégano	Baja:100 µl/10ml de medio (agar-malta-antibiótico)
T5	Orégano	Media:200 µl /10ml de medio (agar-malta-antibiótico)
T6	Orégano	Alta:300 µl/10ml de medio (agar-malta-antibiótico)
T7	Tomillo	Baja:100 µl/10ml de medio (agar-malta-antibiótico)
T8	Tomillo	Media:200 µl/10ml de medio (agar-malta-antibiótico)
T9	Tomillo	Alta:300 µl/10ml de medio (agar-malta-antibiótico)
T10	Control (ortiga)	Baja:100 µl/10ml de medio (agar-malta-antibiótico)
T11	Control (ortiga)	Media:200 µl/10ml de medio (agar-malta-antibiótico)
T12	Control (ortiga)	Alta:300 µl/10ml de medio (agar-malta-antibiótico)

Elaborado Por: Ramírez N, (2018)

### 3.6. Caracterización del ensayo

El ensayo fue realizado en el laboratorio 202 (Lab. De biotecnología y microbiología) de la UPEC, en la provincia del Carchi, los medios fueron esterilizados en autoclave y el material de cristalería en la estufa. Se hizo uso de la cámara de flujo laminar para realizar la siembra en condiciones asépticas. Las placas Petri fueron colocadas en la incubadora para mantener la temperatura constante por un lapso de 17 días.

### 3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

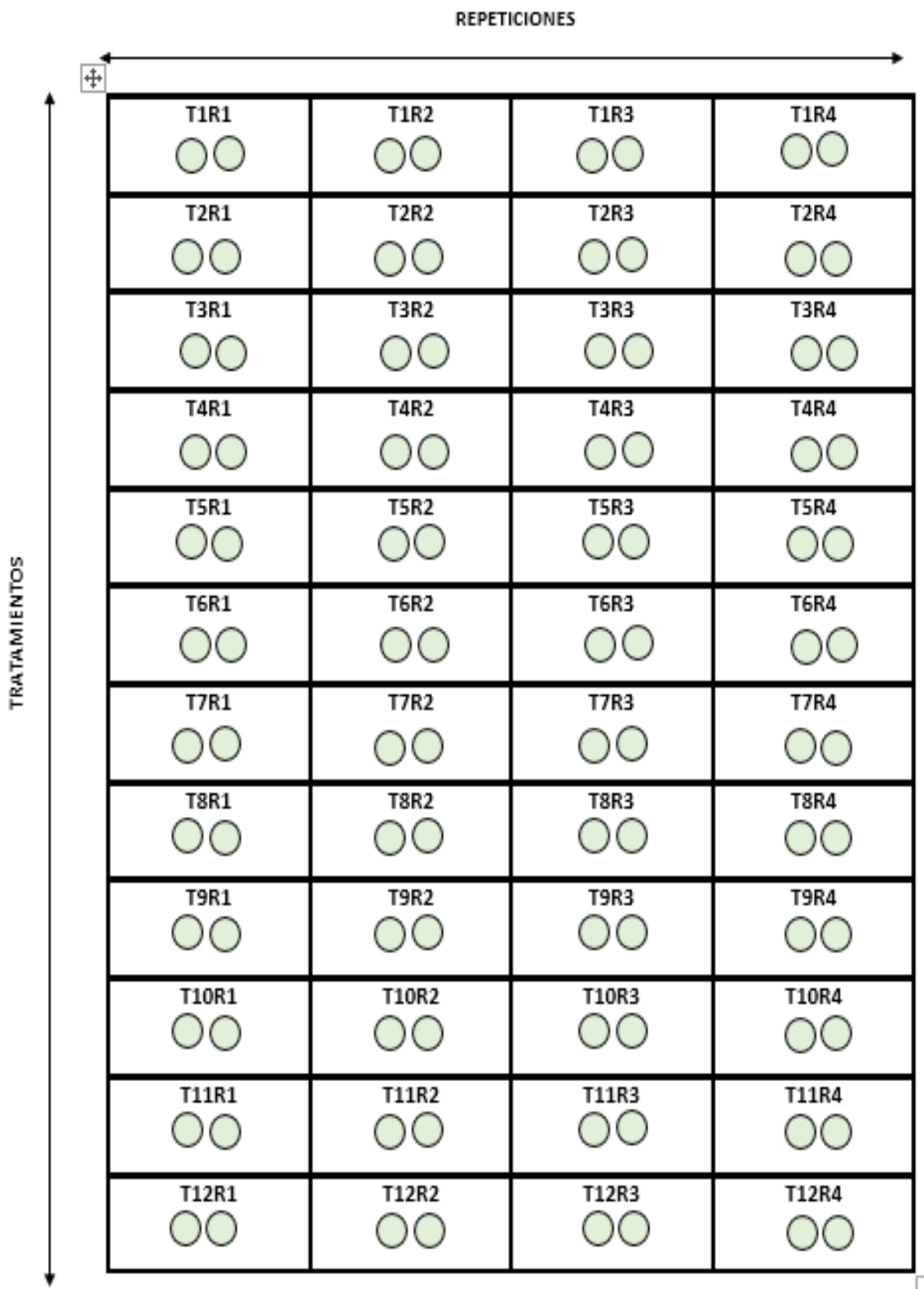
Diseño Completamente al Azar; 12 tratamientos con cuatro repeticiones y dos cajas Petri por cada unidad experimental con 48 unidades experimentales. Fig. 8. Se aplicó una prueba de Tukey al 5%, para determinar las diferencias significativas entre tratamientos, con los datos promedio de las dos variedades de papa (Capiro y superchola).

Se empleó una prueba planteada por Shapiro Wilk, para determinar la normal distribución de los datos.

Para determinar la relación entre los factores 1 y 2 (aceites y dosis) se realizó un análisis factorial en la presencia de dos factores:

1. Modo de acción del aceite fungicida y/o fungistático.
2. Dosis efectiva para el control del hongo (*Phytophthora Infestans*).

El ensayo se probó en dos variedades de papa; variedad Superchola y variedad Capiro. El desarrollo del patógeno (crecimiento del micelio) se midió en cm determinando así la eficiencia de cada uno de los aceites evaluados, al establecer un porcentaje de control en los resultados. Para determinar el tratamiento más efectivo se consideró el poder de acción de cada aceite para inhibir el desarrollo del hongo y se realizó un análisis económico basado los costos de cada tratamiento.



**Figura 8.** Distribución de tratamientos y repeticiones

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. RESULTADOS

Las placas se conservaron en la incubadora por un lapso de 20 días sin fotoperiodo y a una temperatura constante de 20 °C. La toma de datos inició al tercer día de realizada la siembra del hongo, en el medio de cultivo Agar-Malta-Antibiótico con la aplicación de los aceites y el testigo comercial.

#### 4.1.1. Porcentaje de control de *Phytophthora Infestans* bajo 3 aceites esenciales y un testigo comercial en dosis baja, media y alta a los 17 días de observación

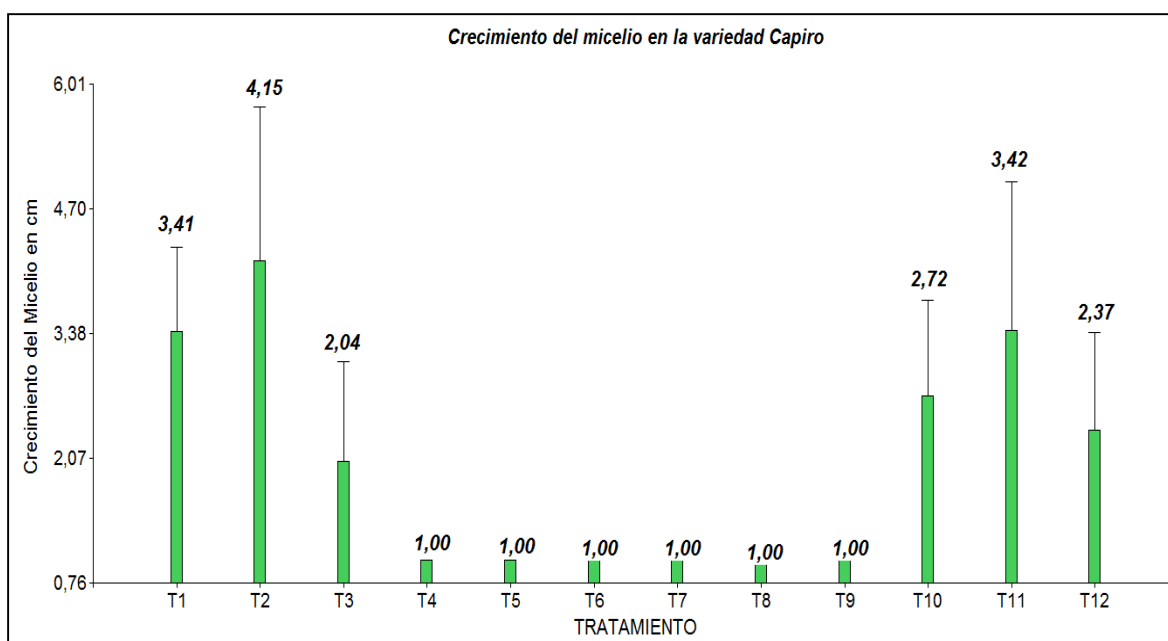
El último día de observación (17 días después de la siembra) se determinó la eficiencia del tratamiento aplicado, resaltando el modo de acción de los aceites de tomillo (*Thymus vulgaris*) y orégano (*Origanum vulgare*) que presentaron un control aproximadamente del 88% al inhibir el crecimiento del patógeno con actividad fungicida y fungistática en todas las dosis evaluadas, esto en los dos tipos de variedades de papa en los que fue aplicado el ensayo. (Tabla 5). El aceite de menta presenta mayor control de la enfermedad en dosis altas (300µl) siendo más efectiva en la variedad Capiro, con un control del 76%. El control (fungicida de ortiga) fue más eficiente en la variedad Súper chola, el tratamiento T11 (control dosis media 200µl) presentó un control del 74%. (Tabla 4).

**Tabla 4.** Porcentaje de control de *Phytophthora infestans* bajo 3 aceites esenciales y un testigo comercial en dosis baja, media y alta a los 17 días de observación

Aceite esencial	Tratamientos	% Control Súper chola	% Control Capiro
Menta B	1	47,235	59,912
Menta M	2	57,088	51,221
Menta A	3	70,412	76,015
orégano B	4	88,235	88,235
Orégano M	5	88,235	88,235
Orégano A	6	88,235	88,235
Tomillo B	7	88,235	88,235
Tomillo M	8	88,235	88,235
Tomillo A	9	88,235	88,235
Control B	10	52,118	67,971
Control M	11	74,206	59,824
Control A	12	63,206	72,176

#### 4.1.2. Desarrollo de micelio en las dos variedades de papa (Super chola y Capiro)

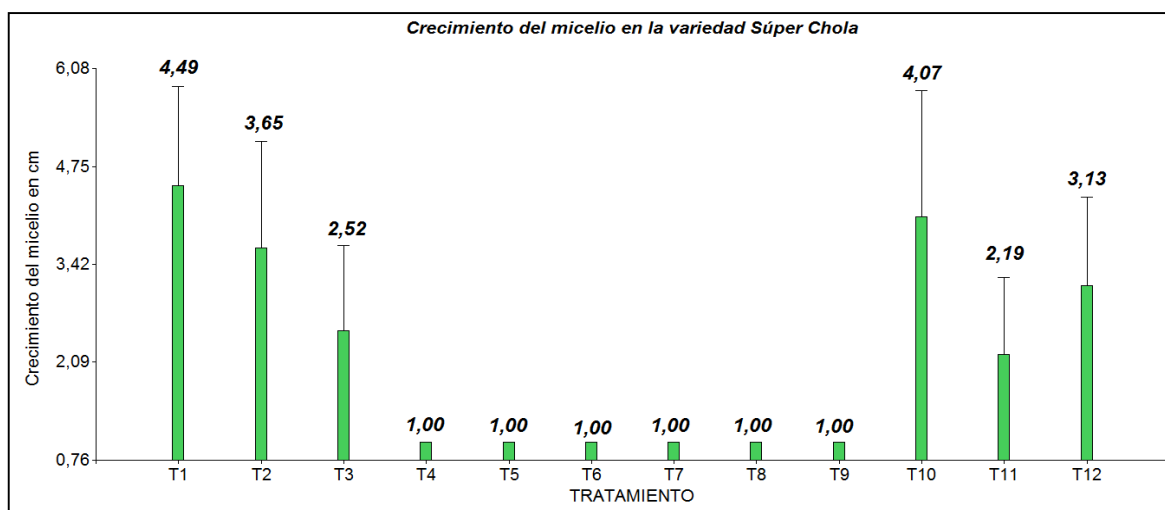
El desarrollo del micelio de *P. infestans* medido en cm se representa en la Fig. 9. para la variedad Capiro, como menciona Guamarrigra (2016). La variedad Capiro muestra cierta resistencia al hongo de *Phytophthora infestans* a diferencia de la variedad Súper chola que es muy susceptible a la enfermedad. El tratamiento T2 (T2 menta dosis media 200µl/10ml) fue el que presentó mayor desarrollo del patógeno en esta variedad. Los tratamientos de orégano (T4, T5, T6) y tomillo (T7, T8 y T9) en todas las dosis evaluadas obtuvieron el menor índice de desarrollo del micelio, seguido del T3 (menta 300µl/10ml) que presentó un control moderado.



**Figura 9.** Crecimiento del hongo en la variedad Capiro a los 17 días

La variedad Súper chola según Guamarrigra (2016) es muy susceptible a la enfermedad, condicionando el crecimiento del hongo (*Phytophthora infestans*). Su mayor índice de desarrollo se dió en el tratamiento de menta dosis baja (T1 menta 100µl/10ml) con un crecimiento promedio de 4,49 cm.

Los tratamientos de orégano (T4, T5, T6) y tomillo, (T7, T8 y T9) en todas las dosis evaluadas al igual que la variedad capiro proporcionaron el mayor nivel de control del patógeno, seguido del T11 (control 200µl/10ml) que presentó un control moderado. Fig 10.



**Figura 10.** Crecimiento del hongo en la variedad Súper chola a los 17 días.

Los aceites más eficiente para inhibir el crecimiento del patógeno fueron los tratamientos T4, T5, T6, T7, T8, T9 que presentaron efectos fungicida y fungistático durante los 17 días de evaluación. El aceite de menta únicamente presentó resultados positivos en el tratamiento T3 a los 7 y 11 días de valoración. El lote de control pudo inhibir el desarrollo del hongo únicamente los primeros tres días de evaluación. Los aceites que presentan control eficiente (positivo) se representan en la Tabla 5.

**Tabla 5.** Eficiencia de control del hongo en los 17 días de observación

Tratamientos	Aceites	Días			
		3 Días	7 Días	11 Días	17 Días
T1	Menta 100µl				
T2	Menta 200µl				
T3	Menta 300µl		Positivo	Positivo	
T4	Orégano 100µl	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
T5	Orégano 200µl	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
T6	Orégano 300µl	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
T7	Tomillo 100µl	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
T8	Tomillo 200µl	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
T9	Tomillo 300µl	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
T10	Control(ortiga) 100µl	Positivo			
T11	Control(ortiga) 200µl	Positivo			
T12	Control(ortiga) 300µl	Positivo			

#### 4.1.3. Prueba de distribución de datos (prueba de normalidad)

Mediante la prueba de normalidad planteada por Shapiro-Wilk, se determinó si los datos obtenidos presentan una distribución normal (Pedrosa, 2015). Al observar la columna p (Unilateral D) si los valores son superiores al valor de significancia en este caso el valor de 0,05 quiere decir que podemos asumir que la distribución de datos es normal (Kahn, 2017).

Al obtener un valor de 0,1410 (tabla 6) en los datos del crecimiento promedio del micelio, no se rechaza la hipótesis nula, y se asume que los datos obtenidos siguen una distribución normal, para proceder a los respectivos análisis estadísticos con pruebas de significancia en este caso empleando la prueba de Tukey.

**Tabla 6.** Prueba de normalidad Shapiro-Wilk aplicado

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Crecimiento promedio	24	3,18	2,30	0,92	0,1410

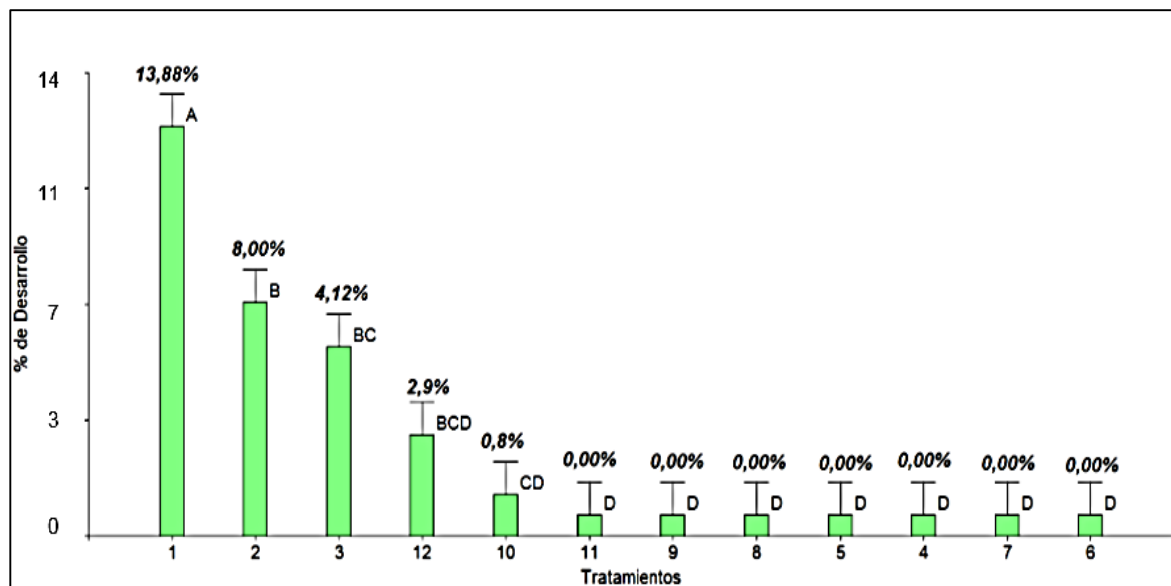
#### 4.1.4. Análisis factorial y prueba de Tukey a los 3 días de observación posterior a la siembra del hongo.

Se realizó un análisis factorial y prueba de Tukey con el crecimiento promedio obtenido en las dos variedades de papa (Capiro, Superchola), esto para un resultado generalizado del índice de control que presenta cada aceite o tratamiento. Para los tres días transcurridos, el análisis factorial aplicado a la experimentación se realizó con la interacción de dos factores. En este caso, los factores dosis y aceites trabajan conjuntamente ( $p=0,0397$ ), en el proceso de inhibición del crecimiento del hongo de *Phytophthora Infestans*. (Tabla 7).

**Tabla 7.** Análisis factorial Aceites\*Dosis a los 3 días de observación

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	7,32	11	0,67	6,45	<0,0001
Aceites	5,69	3	1,90	18,37	<0,0001
Dosis	0,08	2	0,04	0,40	0,6700
Aceites*Dosis	1,55	6	0,26	2,50	0,0397
Error	3,72	36	0,10		
Total	11,04	47			
CV	22,31				

Al tercer día de observación se determinó que el hongo presentaba un desarrollo similar en los tratamientos del rango D con un control del 100%. El tratamiento ubicado en el rango A (T1 menta 100μl) el que proporcionó mayor desarrollo del patógeno con un porcentaje de 13,88% de crecimiento. Fig. 11.



**Figura 11.** Desarrollo del Hongo de *P. infestans* a los 3 días con los 12 tratamientos aplicados

#### 4.1.5. Análisis factorial y prueba de Tukey a los 7 días de observación posterior a la siembra del hongo.

Con un coeficiente de variación de 17,94% el análisis factorial arrojó los siguientes resultados. Al séptimo día de observación, los factores aceite y dosis influyen conjuntamente en el proceso de desarrollo del patógeno en el medio. Tabla 8.

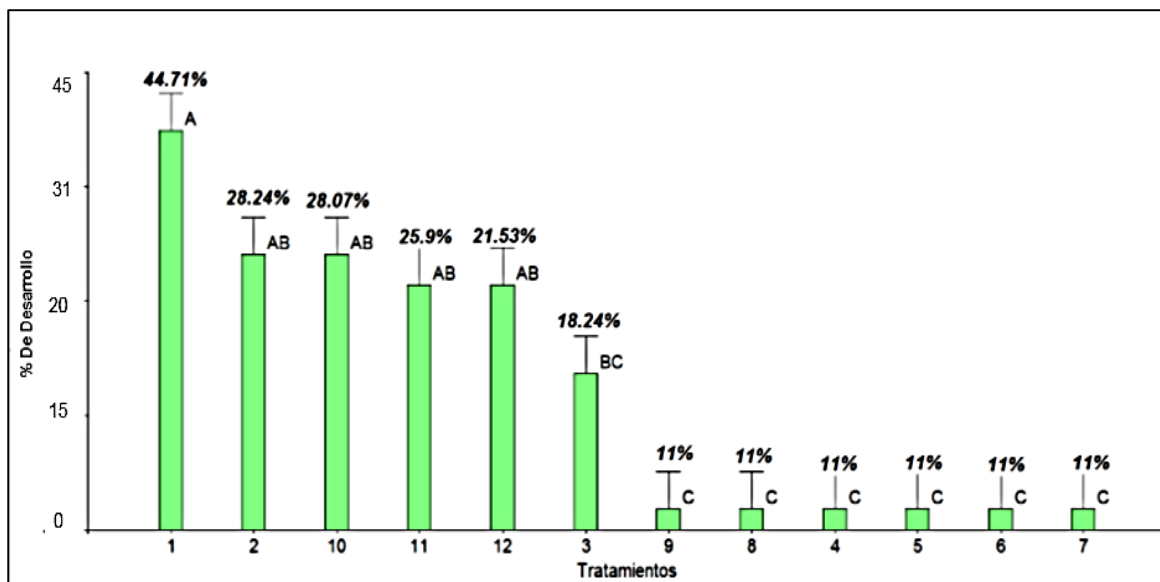
**Tabla 8.** Análisis Factorial Aceites\*Dosis a los 7 días de observación

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	5,79	11	0,53	37,11	<0,0001
Aceites	5,42	3	1,81	127,39	<0,0001
Dosis	0,10	2	0,05	3,70	0,0346
Aceites*Dosis	0,26	6	0,04	3,11	0,0148
Error	0,51	36	0,01		
Total	6,30	47			
CV	17,94				

El análisis factorial aplicado a los 7 días de observación determinó que los tratamientos de orégano (T4, T5, T6) y tomillo, (T7, T8 y T9) ubicados en el rango C presentaron efecto fungistático con un porcentaje del 11% de desarrollo del patógeno. Los tratamientos ubicados en los rangos AB, muestran cierto porcentaje de control frente al patógeno, sin

embargo el mayor desarrollo del hongo se dio en el tratamiento del rango A (T1 menta 100µl) con un desarrollo aproximadamente del 44%. Fig. 12.

#### 4.1.6. Análisis factorial y prueba de Tukey a los 11 días de observación posterior a la



**Figura 12.** Desarrollo del Hongo de *Phytophthora infestans* a los 7 días con los 12 tratamientos aplicados

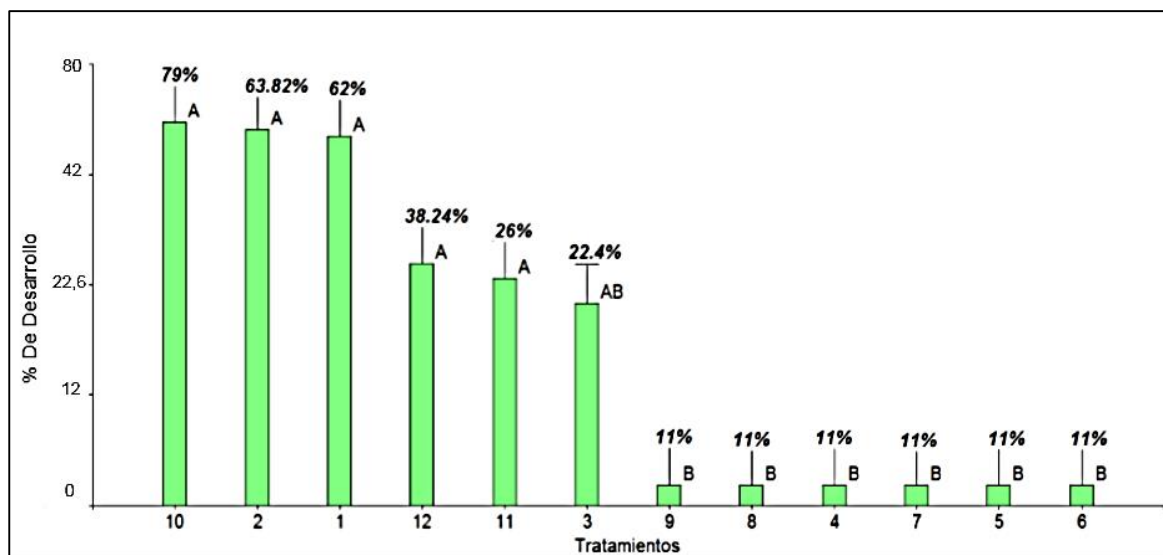
#### siembra del hongo.

Con un coeficiente de variación de 15,74% el análisis factorial arrojó los siguientes resultados. Al onceavo día de observación, los factores aceite y dosis continúan trabajando simultáneamente en el proceso de desarrollo del patógeno. Tabla 9.

**Tabla 9.** Análisis Factorial Aceites\*Dosis a los 11 días de observación

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3,03	11	0,28	19,00	<0,0001
Aceites	2,65	3	0,88	60,80	<0,0001
Dosis	0,13	2	0,07	4,54	0,0175
Aceites*Dosis	0,25	6	0,04	2,92	0,0202
Error	0,52	36	0,01		
Total	3,55	47			
CV	15,74				

En los 11 días de observación los Tratamientos presentes en el rango B orégano (T4, T5, T6) y tomillo, (T7, T8 y T9) permanecieron invariables en su efecto fungistático, los aceites correspondientes a los rangos A, disminuyeron su poder de acción frente al desarrollo del patógeno. Siendo el tratamiento 10 (T10 control 100μl) el de mayor incremento del micelio en el medio de la placa Petri. Fig. 13.



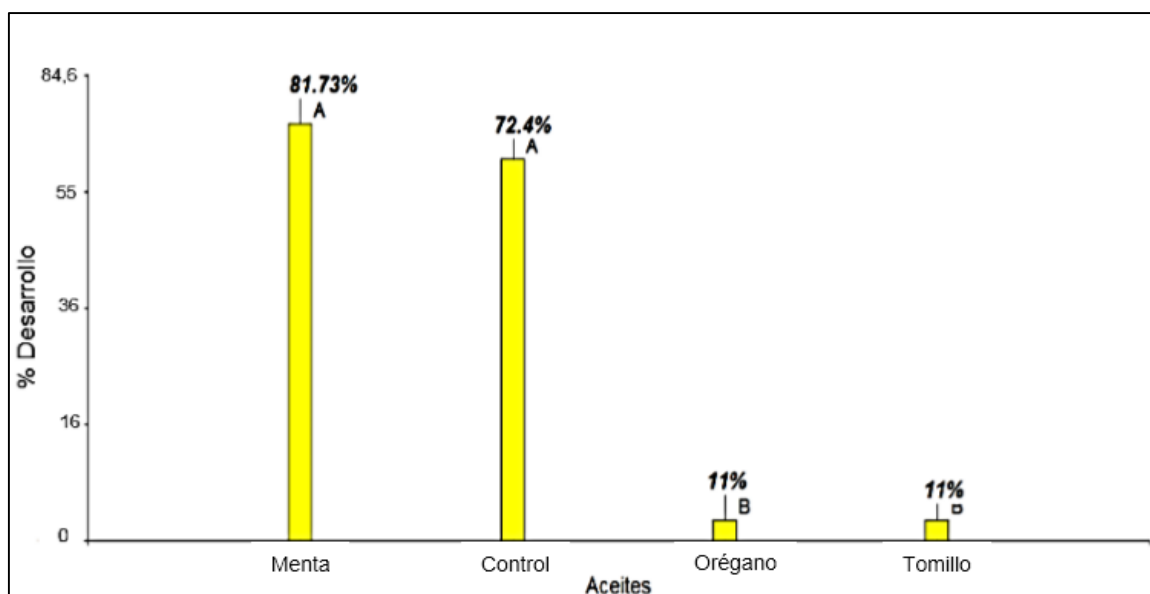
**Figura 13.** Desarrollo del Hongo de *Phytophthora infestans* a los 11 días con los 12 tratamientos aplicados

#### 4.1.7. Análisis factorial y prueba de Tukey a los 17 días de observación posterior a la siembra del hongo.

El último día de observación (Día 17), el desarrollo del patógeno fue determinado por la influencia de cada tipo de aceite, en donde se puede resaltar la eficiencia de los aceites de los orégano (2) y el aceite de tomillo (3), al evitar el desarrollo del hongo con modo de acción fungicida y fungistático. Los aceites de menta (1) y control a base de ortiga (4), permitieron el desarrollo de la enfermedad, en porcentajes de 81.73% y 72.4% respectivamente. Fig. 14.

**Tabla 10.** Análisis Factorial Aceites\*Dosis a los 17 días de observación

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,65	11	0,06	5,38	0,0001
Aceites	0,58	3	0,19	17,46	<0,0001
Dosis	0,03	2	0,01	1,21	0,3113
Aceites*Dosis	0,05	6	0,01	0,74	0,6223
Error	0,40	36	0,01		
Total	1,05	47			
CV	11,78				



**Figura 14.** Desarrollo del Hongo de *Phytophthora infestans* a los 11 días con los 12 aceites aplicados

#### 4.1.8. Análisis económico (costos)

En la tabla 11 se observa el análisis económico, por cada uno de los tratamientos aplicados, determinando así que el tratamiento con mayor eficiencia en el control de la enfermedad y a un precio rentable es el tratamiento T4 (orégano 100µl) al ser efectivo desde la dosis más baja que se evaluó, seguido del tratamiento T12 (control de ortiga 300µl) que presentó un costo menor al T4 pero su índice de control fue menor, requiriendo así de la dosis más alta para mitigar el desarrollo la enfermedad.

**Tabla 11.** Análisis económico por tratamiento aplicado

Tratamientos	Aceite	Dosis	Precio por dosis	Precio por tratamiento	% de control
T1	Menta	100 µl/10ml	0,26	2,11	53,57
T2	Menta	200 µl/10ml	0,52	4,21	54,15
T3	Menta	300 µl/10ml	0,78	6,32	73,22
T4	Orégano	100 µl/10ml	0,31	2,51	88,23
T5	Orégano	200 µl/10ml	0,62	5,01	88,23
T6	Orégano	300 µl/10ml	0,94	7,53	88,23
T7	Tomillo	100 µl/10ml	0,38	3,04	88,23

T8	Tomillo	200 µl/10ml	0,76	6,09	88,23
T9	Tomillo	300 µl/10ml	1,14	9,13	88,23
T10	Control (ortiga)	100 µl/10ml	0,05	0,40	60,045
T11	Control (ortiga)	200 µl/10ml	0,10	0,80	67,02
T12	Control (ortiga)	300 µl/10ml	0,15	1,20	67,70

## 4.2. DISCUSIÓN

Se empleó un análisis factorial a los tres, siete y once días posteriores a la siembra, determinando que la dosis y el tipo aceite trabajan de manera conjunta para la mitigación del patógeno. Los aceites de *T. vulgaris* y *O. vulgare*, controlaron el crecimiento del hongo en un 88,24%, aproximadamente, presentaron efecto fungistático en todas las dosis aplicadas. Estos resultados concuerdan con lo mencionado por García (2006) quien señala que el aceite de orégano evaluado desde la cantidad mínima de 100 ppm, pudo inhibir el crecimiento del hongo de *P. infestans* con un porcentaje de control de un 91%, mientras que Núñez, (2010) señala que el aceite de tomillo en dosis de 2,0 mg mL<sup>-1</sup> inhibe en un 92,1% el desarrollo del patógeno.

El producto de control a base de ortiga (T10, T11 y T12), presentó efecto fungistático únicamente por los primeros 5 días de inoculación con un control del 65% aproximadamente, mientras que los tratamientos correspondientes al aceite de menta (*Mentha piperita*) (T1, T2 y T3) presentaron un control del 60,30%, permitiendo el desarrollo del patógeno a los tres días después de su siembra, resultados contrarios a los datos obtenidos por Núñez, (2010) que menciona un control de *P. infestans* en un 89,9% durante los 19 días de experimentación empleando aceite de menta a dosis de 1,0 mg mL<sup>-1</sup>. Lo reportado por Quintanilla (2002), quien halló que los aceites de *T. vulgaris* y *M. piperita* en evaluación *in vitro* inhibieron significativamente el crecimiento de *P. infestans* entre 63 y 89%. Por lo que se hace énfasis en la verificación de la pureza de los aceites usados para la obtención de resultados más favorables.

Hacia el día 17 (último día de observación) en análisis factorial no determinó interacción aceite\*dosis, demostrando que las respuestas de crecimiento de *P. infestans* dependieron del tipo de aceite, y del día de evaluación. La prueba de Tukey al 5% de significancia estableció que los tratamientos de orégano (T4, T5, T6) y tomillo (T7, T8, T9) presentan diferencias significativas en la variable desarrollo del micelio al controlar la enfermedad de manera más eficiente que el aceite de menta y el testigo comercial.

El carvacrol y el timol son compuestos de unidades terpénicas presentes en los aceites esenciales de algunas especies de la familia *Lamiaceae* como el *O. vulgare* y el *T. vulgaris*, de los cuales se ha encontrado que actúan causando alteraciones en la morfología y agregados hifales, lo que hace que se reduzca el crecimiento y se produzca lisis entre la pared y la membrana celular del agente patógeno (Kordal, 2008).

En el caso del aceite de *Mentha piperita*, la actividad fungistática fue producida por el mentol (50%). Este terpeno oxigenado cíclico, es parcialmente soluble en agua lo que permite una mayor interacción en la fase lípido- agua de las membranas de los microorganismos, aunque los mecanismos de acción para inhibir el desarrollo fúngico no han sido esclarecidos (Ultee, 1998).

El control del patógeno se determinó con resultados positivos en los aceites de tomillo y orégano. García (2006) indica que los aceites esenciales mitigan la enfermedad sin presentar efectos adversos como es la resistencia del patógeno a estos productos, a diferencia del control químico que provoca mutación del patógeno y así conlleva a un mayor uso de estos productos, por lo que la búsqueda de alternativas diferentes y naturales pueden ser posicionadas en el mercado para el combate de esta afección.

Con el propósito de reducir costos y evitar pérdidas en los cultivos de papa (*S. tuberosum*), se maneja un método de control natural, de tal manera que el agricultor obtenga mayor rentabilidad, mejore la calidad de sus productos y evite afecciones a la salud humana y daños ambientales.

Disminuir los efectos nocivos de los fungicidas sobre la población humana a sido motivo del desarrollo de nuevas alternativas para mitigación de la enfermedad *P. infestans*. Al proponer los aceites esenciales como una alternativa natural se puede dar lugar al combate de la enfermedad más importante en los cultivares de papa (*Solanum tuberosum*) obteniendo beneficios económicos en la rentabilidad final del cultivo, mejorar la calidad de los productos y brindar al consumidor un producto saludable y amigable con el ambiente.

## V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones

Los aceites esenciales demostraron el poder de inhibición frente al patógeno *P. infestans*. La metodología más adecuada para el combate o inhibición del crecimiento de *P. Infestans* in vitro es mediante la aplicación de los aceites de orégano y tomillo (tratamientos T4, T5, T6, T7, T8 y T9) que desde su dosis más baja aplicada (100 µl) controló en un 88,24% el desarrollo del hongo, no obstante mediante el análisis económico se determinó que el tratamiento más factible es el T4 (orégano 100µl) que actúa desde dosis bajas, y su costo es menor a diferencia del T3 (menta 300µl) que presentó un control aproximado del 73% pero con un precio superior al necesitar de la aplicación de la dosis más alta.

A los tres días de observación luego de la siembra, se pudo concluir que los aceites de Orégano, Tomillo y el testigo comercial (Fungicida a base de ortiga) inhibieron el crecimiento del patógeno, presentando efecto fungistático, al no mostrar desarrollo del micelio, a diferencia del aceite de menta en donde sí se observó crecimiento del patógeno.

Los resultados se presentaron de forma similar en los siete y once días de observación únicamente los aceites de orégano y tomillo presentaron efecto fungistático al no permitir el desarrollo de la enfermedad en un índice elevado, mientras que los aceites de menta y el testigo comercial dieron lugar al crecimiento del patógeno, esto se presentó mayoritariamente en las placas del aceite de menta (T1, T2, T3).

En el último día de observación (día 17) el desarrollo del patógeno en los tratamientos del aceite de menta (T1, T2, T3) habían alcanzado a cubrir toda el área de la placa Petri, por lo que en ese momento se dio fin a la investigación, resaltando una vez más el modo de acción de los aceites de orégano y tomillo al evitar el desarrollo del patógeno durante los días de experimentación determinando su modo de acción como fungistático.

Se determinó que la dosis adecuada va desde los 100 µl en los aceites de orégano (*Origanum vulgare*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) donde se presentó mayor control en las dos variedades. La dosis media de 200µl del producto de control (T11) en la variedad Súper chola obtuvo un porcentaje de control significativo de 74,21%. Mientras que en la variedad Capiro el

mayor porcentaje de control se dio con la dosis alta de 300µl en menta (T3) con un control del 76,015%.

Los aceites esenciales demostraron el poder de inhibición frente al patógeno en condiciones in vitro, por lo que puede ser establecida como una alternativa de control natural mitigación de la enfermedad.

## **5.2. Recomendaciones**

La aplicación de aceites esenciales si arroja resultados positivos desde dosis mínimas aplicadas, se recomienda como un método de control natural frente a patógenos fungosos.

Se resalta la efectividad del trabajo de los aceites de orégano (*Origanum Vulgare*) y tomillo (*Thymus Vulgaris*) en condiciones controladas (In Vitro) por lo que es recomendable la experimentación de estos productos en condiciones de campo abierto para estudios referentes a la mitigación del patógeno.

Se destaca la efectividad del tratamiento T4 (orégano 100µl) que en base al análisis económico se destacó como el mejor tratamiento, al poseer la capacidad de inhibir el desarrollo del patógeno hasta en un 88,23% con un costo menor a los tratamiento que también presentaron un porcentaje de control similar, por lo que se recomienda el empleo de este tratamiento para posteriores estudios.

Para una posterior investigación la evaluación de la concentración y pureza de los aceites a utilizar, debe ser realizada evitando fallas posteriores en la experimentación.

## VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G. N. (2005). *PLANT PATHOLOGY*. Obtenido de <http://www.dbbe.fcen.uba.ar/contenido/objetos/Agrios2005PARTEI.pdf>
- Ana Niurka Hernández Lauzardo, S. B. (2007). *Revista Fitotecnia Mexicana*. Obtenido de PROSPECTIVA DE EXTRACTOS VEGETALES PARA CONTROLAR ENFERMEDADES POSTCOSECHA HORTOFRUTÍCOLAS: <http://www.redalyc.org/html/610/61030202/>
- Bernal Alcocer, A., Zamora Natera, J. F., Virgen Calleros, G., & Nuño Romero, R. (julio de 2005). *Actividad Biológica in vitro de Extractos de Lupinus spp. sobre Hongos Fitopatógenos*. Obtenido de Revista Mexicana de Fitopatología: <http://www.redalyc.org/html/612/61223205/>
- Chauca, E. (2012). “*COMBATE DE TIZÓN TARDÍO (Phytophthora infestans) CON ACTIVADORES DE DEFENSAS NATURALES EN EL CULTIVO DE PAPA (Solanum tuberosum) c.v. SUPERCHOLA*”. Obtenido de [http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/1607/1/Tesis\\_010agr.pdf](http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/1607/1/Tesis_010agr.pdf)
- Colpa Zamora, M. D. (2016). “*EFECTO INHIBIDOR DEL ACEITE ESENCIAL DE Origanum vulgare (ORÉGANO) y Mentha piperita (MENTA) FRENTE A CEPAS DE Cándida albicans. ESTUDIO IN VITRO*”. Obtenido de <http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/580/TITULO%20-%20COLPA%20ZAMORA%20MAX%20DICKSON.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- David Yaggen, C. C. (2003). *Los Plaguicidas. Impactos en producción, salud y medio ambiente en Carchi-Ecuador*. Obtenido de Centro Internacional de la Papa. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias: <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=8VIXgJpC2PsC&oi=fnd&pg=PA9&dq=El+Tiz%C3%B3n+Tard%C3%ADo+de+la+Papa+es+una+de+esas+enfermedades+en+que+el+uso+de+fungicidas+constituye+la+pr%C3%A1ctica+m%C3%A1s+utilizada+para+su+control.+&ots=Kw-bwjQBvl&sig=SlAt->
- Diego Alzate, G. M. (16 de Enero de 2009). *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portuga*. Obtenido de EVALUACIÓN DE LA FITOTOXICIDAD Y LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA CONTRA Colletotrichum acutatum DE LOS ACEITES ESENCIALES DE TOMILLO (Thymus vulgaris),

LIMONCILLO (*Cymbopogon citratus*), Y SUS COMPONENTES MAYORITARIOS: <http://www.redalyc.org/html/1698/169815393013/>

Elena Pérez Faggiani, P. L. (Marzo de 2015). *FUNGICIDAS BOTÁNICOS. Aceites esenciales de plantas nativas que controlan enfermedades de poscosecha de los cítricos*. Obtenido de <http://riquim.fq.edu.uy/archive/files/c0c09159647756e3a724a9b2c742c96d.pdf>

Fernando Plenge, J. A. (2007). *Riesgos a la salud humana causados por plaguicidas*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/profile/Luis\\_Plenge/publication/242612286\\_Human\\_health\\_risks\\_caused\\_by\\_pesticides/links/54453f7b0cf2f14fb80ef7ef/Human-health-risks-caused-by-pesticides.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Luis_Plenge/publication/242612286_Human_health_risks_caused_by_pesticides/links/54453f7b0cf2f14fb80ef7ef/Human-health-risks-caused-by-pesticides.pdf)

G. Guevar a, S. a. (1999).

*OBTENCIÓN DE VARIEDADES DE PAPA CON RESISTENCIA AL TIZÓN TARDÍO Y BUENAS CARACTERÍSTICAS DE MERCADO*. Obtenido de [http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/OBTENCION\\_DE\\_VARIEDADES\\_DE\\_PAPA\\_RESISTENCIA\\_AL\\_TIZON\\_TARDIO\\_BUENAS\\_CARACTERISTICAS\\_MERCADO.pdf](http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/OBTENCION_DE_VARIEDADES_DE_PAPA_RESISTENCIA_AL_TIZON_TARDIO_BUENAS_CARACTERISTICAS_MERCADO.pdf)

García-Camarillo, E. A., Quezada-Viay, M. Y., Moreno-Lara, J., Sánchez-Hernández, G., Moreno-Martínez, E., & Pérez-Reyes, M. C. (8-12 de Enero- Junio de 2006). *Actividad Antifúngica de Aceites Esenciales de Canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) y Orégano (*Origanum vulgare* L.) y su Efecto sobre la Producción de Aflatoxinas en Nuez Pecanera*. Obtenido de Revista Mexicana de Fitopatología: <http://www.redalyc.org/pdf/612/61224102.pdf>

Goodwin S. B., L. J. (Junio de 1992). *Clonal diversity and genetic differentiation of *Phytophthora infestans* population in Northern and Central Mexico*. Obtenido de [https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1992Articles/Phyto82n09\\_955.PDF](https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1992Articles/Phyto82n09_955.PDF)

Guamarriga, L. J. (Julio de 2016). *VALIDACIÓN DE ESTRATEGIAS DE MANEJO DEL TIZÓN TARDÍO (*Phytophthora infestans*) DE LA PAPA, EN TRES VARIEDADES, PÍLLARO*. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/8223/1/TUCE-0004-53.pdf>

- Henfling, J. W. (1987). *El tizón Tardío de la papa, Phytophthora Infestans* . Obtenido de [https://books.google.es/books?id=KA7n0dNifCYC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=true](https://books.google.es/books?id=KA7n0dNifCYC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=true)
- Huarte, M. (2001). *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Balcarce, Argentina*. Obtenido de Niveles Disponibles de Resistencia al Tizón Tardío en Latinoamérica : [https://www.researchgate.net/profile/Marcelo\\_Huarte/publication/275033947\\_Niveles\\_Disponibles\\_de\\_Resistencia\\_al\\_Tizon\\_Tardio\\_en\\_Latinoamerica/links/552ffd5b0cf20ea0a06f625e.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Marcelo_Huarte/publication/275033947_Niveles_Disponibles_de_Resistencia_al_Tizon_Tardio_en_Latinoamerica/links/552ffd5b0cf20ea0a06f625e.pdf)
- INIAP. (1998). *Variedades de papa cultivadas en Ecuador*. Obtenido de <http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/3333/1/iniapsc129.pdf>
- INIAP-CIP. (3 de Junio de 1997). “*Manejo integrado de las principales plagas y enfermedades del cultivo de papa*”. Obtenido de Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Departamento Nacional de Protección Vegetal EESC: <http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Manejo%20integrado%20de%20las%20principales%20plagas%20y%20enfermedades%20del%20cultivo%20de%20papa..pdf>
- Jorge Jaramillo N, V. P. (2007). *Manual Técnico: Buenas Prácticas Agrícolas en la Producción de Tomate Bajo Condiciones Protegidas*. Obtenido de <http://www.fao.org/co/manualtomate.pdf>
- Juana Aranda Ruiz, R. S. (2009). *CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO LISO (Poliomintha longiflora Gray) DE LA LOCALIDAD INFIERNILLO EN EL MUNICIPIO DE HIGUERAS, N.L., MEXICO*. Obtenido de <http://respyn.uanl.mx/index.php/respyn/article/viewFile/229/211>
- Kamoun, S., Hrabner, P., Sobral, B., & Nuss, D. A. (23 de Febrero de 2011). *Initial Assessment of Gene Diversity for the Oomycete Pathogen Phytophthora infestans Based on Expressed Sequences. Fungal Genetics and Biology*. Obtenido de <http://kamounlab.dreamhosters.com/pdfs/FGB99.pdf>
- Laura Barrera, L. J. (07 de Julio de 2008). *Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional*. Obtenido de Actividad antifúngica de aceites

esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp.:  
<http://www.bioline.org.br/pdf?cg08005>

MAGAP. (2014). *BOLETÍN SITUACIONAL PAPA*. Obtenido de  
<http://sinagap.agricultura.gob.ec/phocadownloadpap/cultivo/2014/kboletin-situacional-de-papa-2014-actualizado.pdf>

Manuel Pumisacho, S. S. (2002). *EL CULTIVO DE LA PAPA EN ECUADOR*. Obtenido de  
<http://cipotato.org/wp-content/uploads/Documentacion%20PDF/Pumisacho%20y%20Sherwood%20Cultivo%20de%20Papa%20en%20Ecuador.pdf>

Martínez González, E. (2006). *Ecured*. Obtenido de Manejo Integrado de Plagas. Manual Práctico: [https://www.ecured.cu/Phytophthora\\_infestans](https://www.ecured.cu/Phytophthora_infestans)

Martínez, A. (2003). *ACEITES ESENCIALES*. Obtenido de UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA, Facultad Química Farmacéutica: [http://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA\\_esencias2001b.pdf](http://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf)

Miguel Barquero, L. G. (Marzo de 2006). *RESISTENCIA AL TIZÓN TARDÍO (Phytophthora infestans) EN CLONES PROMISORIOS DE PAPA EN COSTA RICA*. Obtenido de  
[https://www.researchgate.net/publication/237516157\\_RESISTENCIA\\_AL\\_TIZON\\_TARDIO\\_Phytophthora\\_infestans\\_EN\\_CLONES\\_PROMISORIOS\\_DE\\_PAPA\\_EN\\_COSTA\\_RICA\\_1](https://www.researchgate.net/publication/237516157_RESISTENCIA_AL_TIZON_TARDIO_Phytophthora_infestans_EN_CLONES_PROMISORIOS_DE_PAPA_EN_COSTA_RICA_1)

Ñústez, Y. A. (2010). *Revista de Agronomía Colombiana*. Obtenido de Efecto de algunos aceites esenciales sobre el crecimiento de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary en condiciones de laboratorio: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180315602016>

Ordoñez, M. H. (17 de Octubre de 1999). *A Novel Population of Phytophthora, Similar to P. infestans, Attacks Wild Solanum Species in Ecuador*. Obtenido de <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PHYTO.2000.90.2.197>

P. QUINTANILLA, J. R. (Enero de 2002). *Influence of essential oils on Phytophthora infestans*. Obtenido de <https://eurekamag.com/pdf/004/004203283.pdf>

Ribeiro, E. a. (Enero de 1998). *Agricultura experimental*. Obtenido de <https://www.cambridge.org/core/journals/experimental-agriculture/article/phytophthora-diseases-worldwide-by-d-c-erwin-and-o-k-ribeiro-st-paul-minnesota-the-american-phytopathological-society-1996-pp-562-90-isbn-0890542120/C5BBABB9F890FAD7B7BEFB5B732399B0>

Rosmery Donaire Eguívar, W. G. (Diciembre de 2006). *Alternativa agroecológica para el control del tizón tardío, Phytophthora infestans, de la papa en Colomi - Bolivia*. Obtenido de <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:25d9IMp7ZUYJ:ucbconocimiento.ucbcba.edu.bo/index.php/ran/article/download/126/121+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=ec>

Saban kordal, A. C. (2008). *Propiedades antifúngicas, fitotóxicas e insecticidas del aceite esencial aislado de Origanum acutidens turco y sus tres componentes, carvacrol, timoly p -cimeno*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/5336931\\_Antifungal\\_phytotoxic\\_and\\_insecticidal\\_properties\\_of\\_essential\\_oil\\_isolated\\_from\\_Turkish\\_Origanum\\_acutidens\\_and\\_its\\_three\\_components\\_carvacrol\\_thymol\\_and\\_p-cymene](https://www.researchgate.net/publication/5336931_Antifungal_phytotoxic_and_insecticidal_properties_of_essential_oil_isolated_from_Turkish_Origanum_acutidens_and_its_three_components_carvacrol_thymol_and_p-cymene)

Saldívar, |. R. (10 de Mayo de 2002). *Revista Mexicana de FITOPATOLOGIA*. Obtenido de Inhibición del Crecimiento Micelial de Rhizoctonia solani Kühn y Phytophthora infestans Mont. (De Bary) con Extractos Vegetales Metanólicos de Hojasén (Flourensia cernua D.C.), Mejorana (Origanum majorana L.) y Trompetilla [Bouvardia ternifolia (Ca.): <http://www.redalyc.org/html/612/61221102/>

SENA, S. N. (2012). *INTRODUCCION A LA INDUSTRIA DE LOS ACETES ESENCIALES EXTRAIDOS DE LAS PLANTAS MEDICINALES Y AROMATICAS*. Obtenido de [https://repositorio.sena.edu.co/sitios/introduccion\\_industria\\_aceites\\_esenciales\\_plantas\\_medicinales\\_aromaticas/#](https://repositorio.sena.edu.co/sitios/introduccion_industria_aceites_esenciales_plantas_medicinales_aromaticas/#)

Ultee, G. a. (1998). *Bactericidal activity of carvacrol towards the food-borne pathogen Bacillus cereus*. Obtenido de [https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/42098042/Bactericidal\\_activity\\_of\\_carvacrol\\_toward20160204-30232-1qtm8z7.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1539577253&Signature=OG9TgFvTf2xYLeWJT8%2BRQQYZEGc%3D&response-content-disposition=inli](https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/42098042/Bactericidal_activity_of_carvacrol_toward20160204-30232-1qtm8z7.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1539577253&Signature=OG9TgFvTf2xYLeWJT8%2BRQQYZEGc%3D&response-content-disposition=inli)

Vásquez, N. Y. (2017). *Resistencia a Phytophthora infestans (Mont.) de Bary en una población de variedades elite de Solanum phureja (Juz. et Buk.)*. Obtenido de <http://www.bdigital.unal.edu.co/57555/1/39451506.2017.pdf>

W. Pérez, G. F. (Agosto de 2014). *MANUAL TÉCNICO El tizón tardío de la papa*. Obtenido de <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/08/004271.pdf>

Winward GP, A. L. (Diciembre de 2007). *Aceites esenciales para la desinfección de aguas grises*. Obtenido de Europe PMC: <http://europepmc.org/abstract/med/18221769>

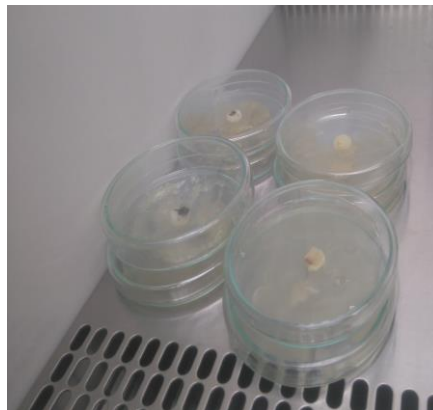
## VII. ANEXOS

### Anexo 1. Hongo de *P. infestans* proliferado

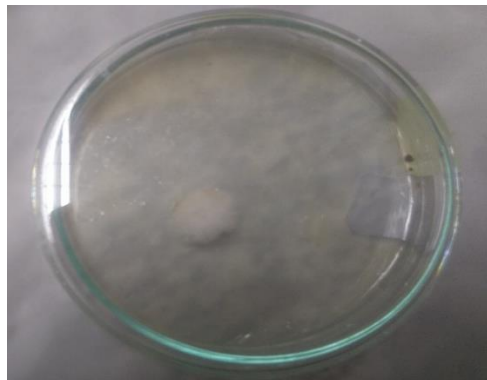


Elaborado por: Ramírez, N. (2018)

### Anexo 2. Placas sembrado el micelio de *P. infestans*

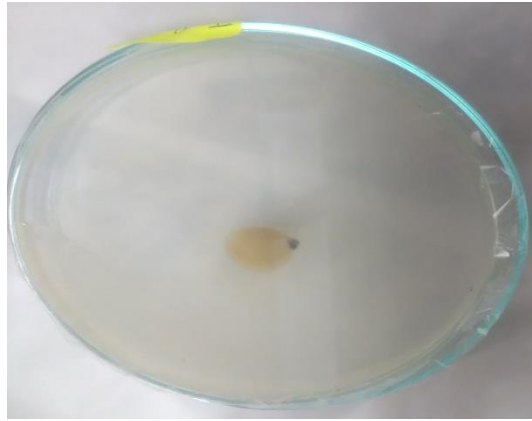


### Anexo 3. *Mentha piperita* 3 días posterior a la siembra



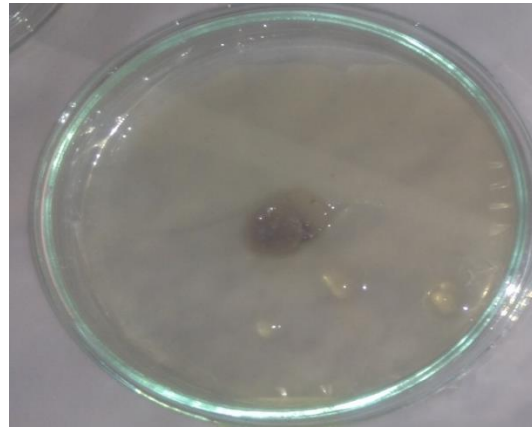
Elaborado por: Ramírez, N. (2018)

**Anexo 4.** *Origanum vulgare* 3 días posteriores a la siembra

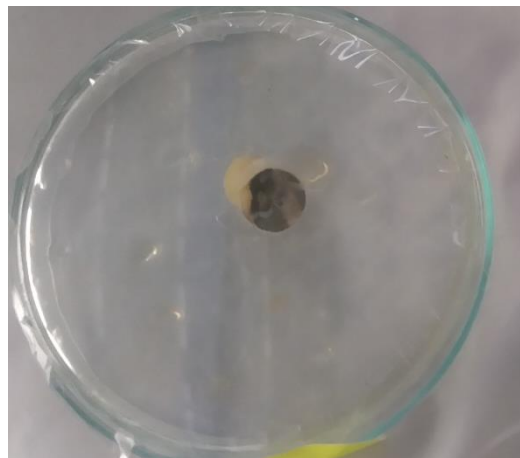


Elaborado por: Ramírez, N. (2018)

**Anexo 5.** *Thymus Vulgaris* 3 días posteriores a la siembra

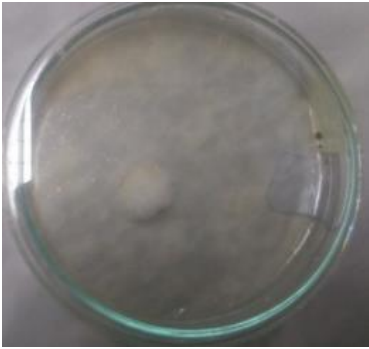






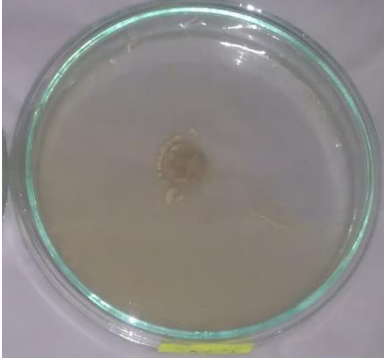



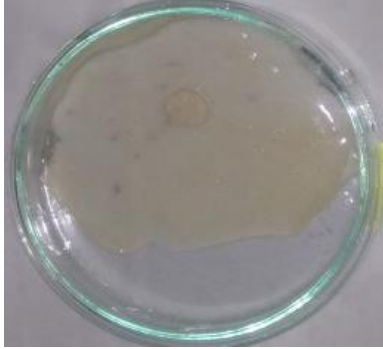

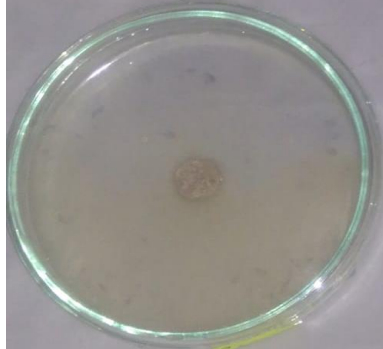
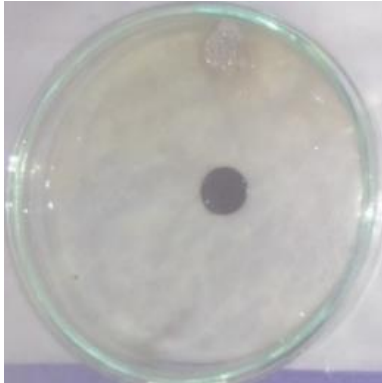
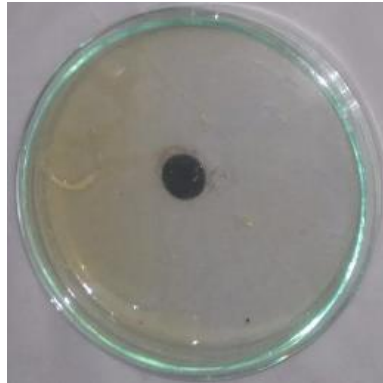
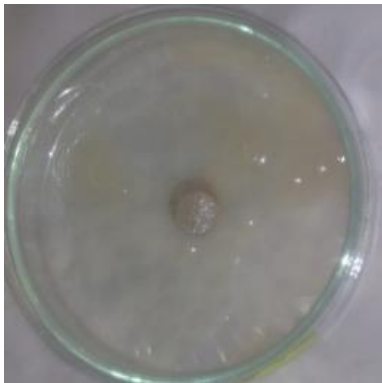
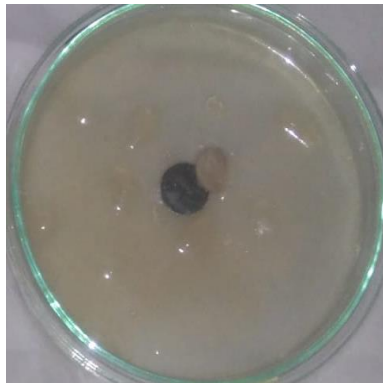
**Anexo 6.** Control 3 días posteriores a la siembra

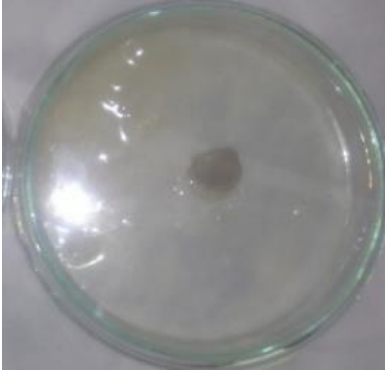
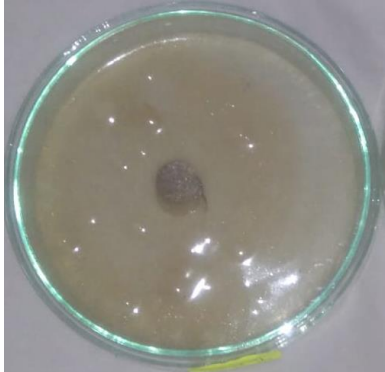
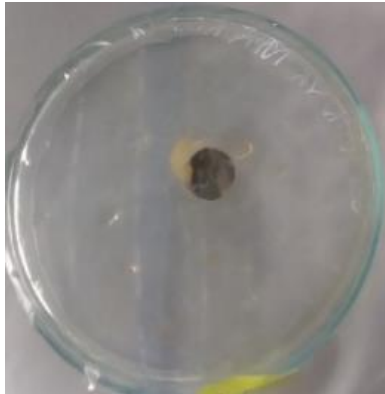
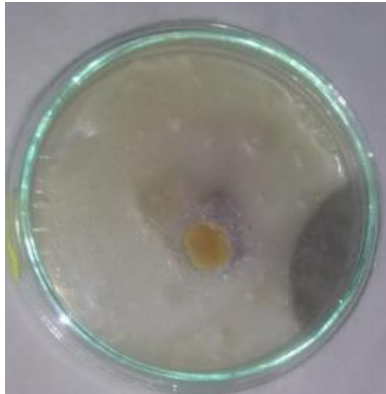
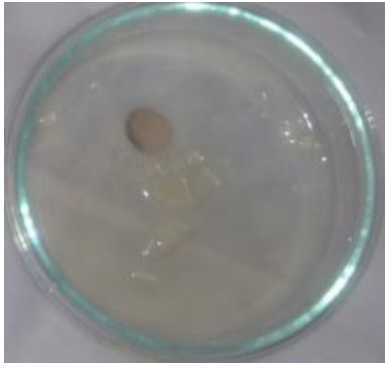
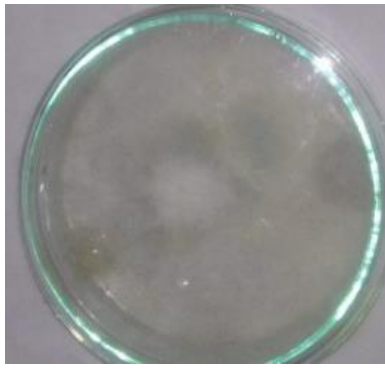


Elaborado por: Ramírez, N. (2018)

**Anexo 7. Tratamientos: Fase inicial- Fase final**

<b>T</b>	<b>(Fase inicial)</b>	<b>(Fase final)</b>
<b>1</b>		
<b>2</b>		
<b>3</b>		
		

5		
6		
7		
8		

<p>9</p>		
<p>10</p>		
<p>11</p>		
<p>12</p>	