UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA

FACULTAD CIENCIAS DE LA VIDA CARRERA DE BIOLOGÍA

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

TEMA:

Efectos del extracto acuoso de hojas de *Tectona grandis* L. sobre el crecimiento del hongo fitopatógeno *Cladosporium cladosporioides*

AUTOR(ES):

Johel Ronny Ochoa Roblez

Elizabeth Deanna Condor Chuim

DOCENTE - TUTOR:

Luis Ramón Bravo Sánchez, PhD

Puyo - Pastaza -

Ecuador 2022

FORMATO 4

APROBACIÓN DE LOS TRABAJOS DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

(UNO POR CADA EVALUADOR)

En el siguiente cuadro se detalla un conjunto de criterios a evaluar con un total de cien (100)puntos.		
Criterios	**Puntaje**	**Argumentos de la calificación**
1. TÍTULO		
El título es conciso e informativo de laidea principal del escrito. Genera expectativas de lectura que secumplen.	5/5	
2. RESUMEN		
Entrega información necesaria que oriente al lector a identificar de qué setrata la investigación y su relevancia. Incorpora los objetivos, metodología, principales hallazgos y conclusiones.	5/5	
3. INTRODUCCION		
Entrega información sobre la temática a tratar. Describe la relevancia del tema dentro de las temáticas de investigación,vinculación y docencia. Presentación delproblema y objetivos del problema del artículo de manera clara y concisa.	20/20	
4. MARCO TEÓRICO		
Marco teórico coherente y articuladocon los objetivos. Entrega conceptos de términos que sonempleados en el estudio. Sustenta el referente conceptual conadecuadas fuentes de autoridad.	15/15	
5. METODOLOGIA		
Describe el tipo de investigación a desarrollar. Expone con claridad el procesamiento de la información y obtención de los datos. Plantea los criterios de análisis con quese abordó la información.	15/15	

6. ANÁLISIS DE RESULTADOS		
Entrega los resultados de manera organizada a partir del problema planteado, objetivos específicos, etc.Los cuadros y figuras son pertinentes y están claramente representados. El texto no repite información entregada en los cuadros y figuras.	25/25	
7. CONCLUSIONES		
Las conclusiones deben ser claras yprecisas, acorde a los objetivos trazados. Discute, reflexiona sobre los resultadosobtenidos.	10/10	
8. REFERENCIAS		
Atiende las normas APA en las citas,fuentes y referencias. Las referencias bibliográficas tienen lafuente en el texto y viceversa.	3/5	Tienen todavía errores en Agrios porejemplo
VALORACIÓN TOTAL	98	

DICTAMEN

Marque la casilla correspondiente a su criterio de evaluación respecto al documento revisado.

Recomendación	**Marque con X**
Aprobar	X
No Aprobar	
CALIFICACIÓN	98/10 0

Atentamente,



Firmado electrónicamente por:

SANDRA LUISA

Sandra Luisa Soria Re
docente PAR CIEGO

Dado en la ciudad de Puyo, a los 09 días del mes de agosto de 2022

FORMATO 4

APROBACIÓN DE LOS TRABAJOS DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

(UNO POR CADA EVALUADOR)

En el siguiente cuadro se detalla un conjunto de criterios a evaluar con un total de cien (100)puntos.		
Criterios	**Puntaje**	**Argumentos de la calificación**
1. TÍTULO **Efectos del extracto acuoso de hojas de *Tectona grandis* L. sobre el crecimiento del hongo fitopatógeno *Cladosporium cladosporioides***		
El título es conciso e informativo de laidea principal del escrito. Genera expectativas de lectura que secumplen.	5/5	
2. RESUMEN		
Entrega información necesaria que oriente al lector a identificar de qué setrata la investigación y su relevancia. Incorpora los objetivos, metodología, principales hallazgos y conclusiones.	5/5	
3. INTRODUCCION		
Entrega información sobre la temática a tratar. Describe la relevancia del tema dentro de las temáticas de investigación,vinculación y docencia. Presentación delproblema y objetivos del problema del artículo de manera clara y concisa.	20/20	
4. MARCO TEÓRICO		
Marco teórico coherente y articuladocon los objetivos. Entrega conceptos de términos que sonempleados en el estudio. Sustenta el referente conceptual conadecuadas fuentes de autoridad.	15/15	
5. METODOLOGIA		
Describe el tipo de investigación a desarrollar. Expone con claridad el procesamiento de la información y obtención de los datos. Plantea los criterios de análisis con quese abordó la información.	15/15	

6. ANÁLISIS DE RESULTADOS		
Entrega los resultados de manera organizada a partir del problema planteado, objetivos específicos, etc.Los cuadros y figuras son pertinentes y están claramente representados. El texto no repite información entregada en los cuadros y figuras.	22/25	
7. CONCLUSIONES		
Las conclusiones deben ser claras yprecisas, acorde a los objetivos trazados. Discute, reflexiona sobre los resultadosobtenidos.	10/10	
8. REFERENCIAS		
Atiende las normas APA en las citas,fuentes y referencias. Las referencias bibliográficas tienen lafuente en el texto y viceversa.	5/5	
VALORACIÓN TOTAL	100	

DICTAMEN

Marque la casilla correspondiente a su criterio de evaluación respecto al documento revisado.

Recomendación	**Marque con X**
Aprobar	x
No Aprobar	
CALIFICACIÓN	97

Atentamente,

Firmado electrónicamente por:

MARIA ADELA VALDES SAENZ

Dra. María Adela Valdés Sáenz

Dado en la ciudad de Puyo, a los 10 días del mes de agosto de 2022

UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VIDA CARRERA DE BIOLOGÍA

Puyo, 3 de agosto de 2022

Por medio del presente CERTIFICO que:

El Trabajo de Integración Curricular correspondiente al estudiante: Ochoa Roblez RonnyJohel, con C.I. 2100781554, con el Tema: "Efectos del extracto acuoso de hojas de *Tectona grandis* L. sobre el crecimiento del hongo fitopatógeno *Cladosporium cladosporioides*.", de la carrera de Biología. Docente-director del Trabajo de Integración Curricular: Luis Ramón Bravo Sánchez, ha sido revisado mediante el sistema antiplagio URKUND, reportando una similitud del 0%, Informe generado con fecha 3 de agosto de2022 por parte del director conforme archivo adjunto.

Particular que comunico a usted para los fines pertinentes

Atentamente,

Firmado electrónicamente por:

LUIS RAMON BRAVO

Dr. Luis Ramón Bravo Sánchez

C.I. 1757041452

Docente-director del Trabajo de Integración Curricular

Ouriginal

DOCUMENT INFORMATION

Analyzed Document	Efectos del extracto acuoso de hojas de Tectona grandis L. para Ouriginal.docx (D142635126)
Submitted	2022-08-03 17:57:00
Submitted by	
Submitter email	lbravo@uea.edu.ec
Similarity	0%
Analysis address	lbravo.uea@analysis.urkund.com

SOURCES INCLUDED IN THE REPORT

Entire Document

Efectos del extracto acuoso de hojas de Tectona grandis L. sobre el crecimiento del hongo fitopatógeno Cladosporium cladosporioides
Universidad Estatal Amazónica, Facultad de Ciencias de la Vida, Carrera de Biología (1) Resumen La búsqueda de alternativas ambientalmente amigables para el control de plagas y enfermedades en la agricultura y en postcosecha es de vital importancia, dado el efecto nocivo que producen los agroquímicos principalmente en la salud del suelo, y teniendo en cuenta los antecedentes de sustitución de los mismos por productos naturales a partir de extractos ricos Comment0 en metabolitos secundarios de plantas, es importante el desarrollo de nuevos extractos que permitan el control de microorganismos, como los hongos. Se conoce que los extractos acuosos de hojas de Tectona grandis L. (teca Comment1), son ricos en taninos y flavonoides, y se ha demostrado que ejercen control sobre Comment2 algunos fitopatógenos. Teniendo en cuenta estos antecedentes, el objetivo de esta investigación fue: evaluar el efecto del extracto acuoso de hojas de Tectona grandis L. sobre el crecimiento del hongo fitopatógeno Cladosporium cladosporioides. Para cumplir con el objetivo se obtuvieron los extractos acuosos con un rendimiento de 1,61% sobre la base de los sólidos disueltos, y serealizaron ensayos in vitro a diferentes concentraciones y por dos métodos diferentes. Se demostró que laextracción asistida por ultrasonido resultó efectiva para la obtención de los extractos acuosos, sin embargo, los extractos acuosos de Tectona grandis L., a las concentraciones ensayadas, no tuvieron un efecto inhibitorio sobre la cepa del hongo Cladosporium cladosporioid Comment3 es: A pesar de esto, lasdiferencias observadas en cuanto a crecimiento a las diferentes concentraciones indican la necesidad de un estudio posterior a mayores dosis de extracto.
Palabras Clave: hongos fitopatógenos, extracción asistida por ultrasonidos, ensayos antifúngicos in vitro.

t a

UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VIDA CARRERA DE BIOLOGÍA

Puyo, 3 de agosto de 2022

Por medio del presente CERTIFICO que:

El Trabajo de Integración Curricular correspondiente a la estudiante: Condor Chuim Deanna Elizabeth, con C.I. 1600700759, con el Tema: "Efectos del extracto acuoso de hojas de *Tectona grandis* L. sobre el crecimiento del hongo fitopatógeno *Cladosporium cladosporioides*.", de la carrera de Biología. Docente-director del Trabajo de Integración Curricular: Luis Ramón Bravo Sánchez, ha sido revisado mediante el sistema antiplagio URKUND, reportando una similitud del 0%, Informe generado con fecha 3 de agosto de2022 por parte del director conforme archivo adjunto.

Particular que comunico a usted para los fines pertinentes

Atentamente,

Firmado electrónicamente por:

LUIS RAMON BRAVO

Dr. Luis Ramón Bravo Sánchez

C.I. 1757041452

Docente-director del Trabajo de Integración Curricular

DOCUMENT INFORMATION

Analyzed Document	Efectos del extracto acuoso de hojas de Tectona grandis L. para Ouriginal.docx (D142635126)

Submitted	2022-08-03 17:57:00
Submitted by	
Submitter email	
	lbr
avo@uea.edu.ec	
Similarity	
	0
%	
Analysis address	lbravo.uea@analysis.urkund.com

SOURCES INCLUDED IN THE REPORT

Entire Document

Efectos del extracto acuoso de hojas de Tectona grandis L. sobre el crecimiento del hongo fitopatógenoCladosporium cladosporioides
Universidad Estatal Amazónica, Facultad de Ciencias de la Vida, Carrera de Biología (1) Resumen La búsqueda de alternativas ambientalmente amigables para el control de plagas y enfermedades en la agricultura y en postcosecha es de vital importancia, dado el efecto nocivo que
producen los agroquímicos principalmente en la salud del suelo, y teniendo en cuenta los antecedentes desustitución de los mismos por productos naturales a partir de extractos ricos Comment0 en metabolitos secundarios de plantas, es importante el desarrollo de nuevos extractos que permitan el control de microorganismos, como los hongos. Se conoce que los extractos acuosos de hojas de Tectona grandis L. (teca Comment1), son ricos en taninos y flavonoides, y se ha demostrado que ejercen control sobre Comment2 algunos fitopatógenos. Teniendo en cuenta estos antecedentes, el objetivo de esta investigación fue: evaluar el efecto del extracto acuoso de hojas de Tectona grandis L. sobre el crecimiento del hongo fitopatógeno Cladosporium cladosporioides. Para cumplir con el objetivo se obtuvieron los extractos acuosos con un rendimiento de 1,61% sobre la base de los sólidos disueltos, y serealizaron ensayos in vitro a diferentes concentraciones y por dos métodos diferentes. Se demostró que laextracción asistida por ultrasonido resultó efectiva para la obtención de los extractos acuosos, sin embargo, los extractos acuosos de Tectona grandis L., a las concentraciones ensayadas, no tuvieron un efecto inhibitorio sobre la cepa del hongo Cladosporium cladosporioid Comment3 es: A pesar de esto, las diferencias observadas en cuanto a crecimiento a las diferentes concentraciones indican la necesidad de un estudio posterior a mayores dosis de extracto.
Palabras Clave: hongos fitopatógenos, extracción asistida por ultrasonidos, ensayos antifúngicos in vitro.

t a

Efectos del extracto acuoso de hojas de *Tectona grandis* L. sobre el crecimiento del hongo fitopatógeno *Cladosporium cladosporioides*

Elizabeth Deanna Condor Chuim [1]
blg2017110@uea.edu.ec

Johel Ronny Ochoa Roblez[1]
blg2017106@uea.edu.ec

Luis Ramón Bravo Sánchez, PhD.[2]
lbravo@uea.edu.ec

Universidad Estatal Amazónica, Facultad de Ciencias de la Vida, Carrera de Carrera de Biología (1)

Resumen

La búsqueda de alternativas ambientalmente amigables para el control de plagas y enfermedades en la agricultura y en postcosecha es de vital importancia, dado el efecto nocivo que producen los agroquímicos principalmente en la salud del suelo, y teniendo en cuenta los antecedentes de sustitución de los mismos por productos naturales a partir de extractos con metabolitos secundarios de plantas, es importante el desarrollo de nuevos extractos que permitan el control de microorganismos, como los hongos. Se conoce que los extractos acuosos de hojas de *Tectona grandis* L. (teca), son ricos en taninos y flavonoides, y se ha demostrado que ejercen control sobre algunos fitopatógenos. Teniendo en cuenta estos antecedentes, el objetivo de esta investigación fue: evaluar el efecto del extracto acuoso de hojas de *Tectona grandis* L. sobre el crecimiento del hongo fitopatógeno *Cladosporium cladosporioides*. Para cumplir con el objetivo se obtuvieron los extractos acuosos con un rendimiento de 1,61% sobre la base de los sólidos disueltos, y se realizaron ensayos *in vitro* a diferentes concentraciones y por dos métodos diferentes. Se demostró que la extracción asistida por ultrasonido resultó efectiva para la obtención de los extractos acuosos, sin embargo, los extractos acuosos de *Tectona grandis* L., a las concentraciones ensayadas, no tuvieron un efecto inhibitorio sobre la cepa del hongo *Cladosporium cladosporioides*: A pesar de esto, las diferencias observadas en cuanto a crecimiento a las diferentes concentraciones indican la necesidad de un estudio posterior a mayores dosis de extracto.

Palabras Clave*:* hongos fitopatógenos, extracción asistida por ultrasonidos, ensayos antifúngicos *in vitro*.

Abstract

The search for environmentally friendly alternatives for the control of pests and diseases in agriculture and post-harvest is of vital importance, given the harmful effect that agrochemicals produce primarily on soil health. So, it is important their substitution, by products from extracts rich in secondary plant metabolites, developing new extracts that could allow the control of microorganisms, such as fungi. It is well known that the aqueous extracts of *Tectona grandis* L. (teak) leaves are rich in tannins and flavonoids, and they can control some phytopathogens. The objective of this research was to evaluate the effect of the aqueous extract of *Tectona grandis* L. leaves on the growth of the phytopathogenic fungus *Cladosporium cladosporioides*. To meet the objective, aqueous extracts with a yield of 1.61% based on dissolved solids were obtained and *in vitro* tests at different concentrations and by two different methods were carried out. Ultrasound-assisted extraction was shown to be effective in obtaining aqueous extracts, however, the aqueous extracts of *Tectona grandis* L., at the concentrations tested, did not have an inhibitory effect on the *Cladosporium cladosporioides* fungus strain. Despite of this, the differences observed in terms of growth at the different concentrations indicate the need for a subsequent study at higher doses of extract.

Keywords: phytopathogenic fungi, ultrasound-assisted extraction, *in vitro* antifungal assays.

1. INTRODUCCIÓN

Los sistemas agrícolas se han visto afectados por el uso de agroquímicos para controlar el ataque de malezas, plagas y enfermedades, generando graves problemas sobre la salud humana y de carácter ambiental; entre estos problemas, se cita la reducción de la biodiversidad como uno de los más importantes, la pérdida en la salud del suelo (Gan & Wickings, 2017). El control biológico es una práctica agrícola en constante crecimiento que busca la destrucción total o parcial de patógenos e insectos plaga, mediante el uso de sus enemigos naturales (Spardo & Gullino, 2004). Durante los últimos años, los fungicidas de síntesis han sido una de las estrategias más utilizadas por los agricultores para controlar las enfermedades causadas por estos; los más comunes en su composición química son compuestos fosforados, clorados, carbamatos, nitroderivados y derivados aromáticos (Martínez-Romero et al., 2008; Cantrell et al., 2012).

Tectona grandis L. (teca) es una especie nativa del sudeste asiático, muy apreciada y valiosa a nivel mundial por sus características de textura, durabilidad y resistencia a hongos, termitas y descomposición. Además, el cultivo se ha extendido a los demás países tropicales del mundo (Navas, 2015). En la actualidad la especie forestal *Tectona grandis* L. debido a los parámetros de distribución y clima se adaptó a las condiciones edafo-climáticas que posee el Ecuador, de esta manera se ha vuelto una especie forestal comercial, formando así un eje muy potencial para su comercialización y uso, por presentar excelentes características físicas y químicas, porque es una madera durable, resistente, tiene buen color, de buena calidad, etc. Debido a esto las plantaciones de teca han ido aumentando significativamente en las últimas

décadas potenciando así el desarrollo del sector forestal y generando trabajo de forma directa o indirecta (Indacochea, 2018).

La madera de esta especie arbórea es considerada como valiosa, debido a su durabilidad, color, fuerza, facilidad de trabajar, no se deteriora en contacto con el agua y metales, no se deforma, y su emisión de aceites y resinas naturales la hacen, con los años, más hermosa (Armijos, 2014). La adaptabilidad de sus especímenes, su crecimiento relativamente rápido y la calidad de sus derivados, brindan un gran alcance económico (Miranda y Quiñonez, 2018). Algunos estudios realizados con extractos de la corteza de la teca, que se obtiene como un residuo de la industria maderera, se le atribuyen características importantes como las propiedades antibacterianas, citotóxicas, y antioxidantes (Mahesh & Jayakumaran, 2010; Monsalve & Bello, 2020).

La composición química de la teca es muy variada, un ejemplo de ello es el trabajo realizado por Pardo, (2013) en el que reporta un análisis químico elemental de la madera de teca, y señala que los elementos se encuentran distribuidos por la pared celular en varias cantidades que se alteran según el origen, edad, clima, y condiciones de suelo, así como también por parámetros fisicoquímicos como la densidad y temperatura.

Los beneficios etnomedicinales atribuidos a las hojas de la teca se relacionan con la mejora de la lesión de la mucosa gástrica, por lo que pudiera tener un efecto gastroprotector importante (Diallo et al., 2008). También, los componentes antioxidantes de tipo fenólico, flavonoides, taninos y quinonas que posee este órgano vegetal ayudan a combatir los radicales libres que pueden ser la causa del crecimiento de las células cancerosas y el envejecimiento prematuro (Barzola et al., 2018).

En los estudios de (Adriani & Ngurah, 2012) se comprobó la actividad antifúngica en extractos de hojas de teca los cuales resultaron eficaces para prevenir el crecimiento del hongo *Arthrinium phaeospermum*. Otra investigación demostró que dichos extractos, acuosos o hidroalcohólicos fueron capaces de inhibir el crecimiento miceliar de hongos fitopatógenos del suelo como *Sclerotium rolfsii* y *Rhizoctonia solani*, por inhibición de la respiración en un estudio realizado con mitocondrias aisladas (Quispe et al., 2010). También se han reportados estudios de control de los hongos *Aspergillus niger* y *Rhizopus stolonifer* (Jaramillo, 2019), por lo que sería importante continuar ampliando la gama de posibles hongos a controlar y de esa manera ir sustituyendo los agroquímicos utilizados en la actualidad.

Además de las enfermedades producidas en plantaciones agrícolas y forestales, los hogos también pueden causar problemas en la madera (Clausen, 2010). De acuerdo con su origen geográfico, los organismos causantes de problemas fitosanitarios pueden ser nativos o introducidos; los que a su vez pueden ser específicos o tener un rango amplio o reducido de hospedantes. Más aún, algunos están en la capacidad de colonizar y adaptarse a nuevos hospedantes cuando la oferta alimenticia es favorable (Pinzón, 2007).

Entre los hongos y oomycetos fitopatógenos más significativos tanto en pre como en poscosecha en distintos cultivos se encuentran algunos géneros como *Botrytis*, *Puccinia*,

Rhizoctonia, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Mycosphaerella*, *Hemileia*, *Tilletia*, *Ceratocystis*, *Cochliobolus*, *Sclerotium*, *Sclerotinia*, *Erysiphe*, *Sphaerotheca*, *Phytium*, *Plasmopara*, *Peronospora*, *Phytophthora*, entre otros (Hosni et al., 2013; Castaño-Zapata, 2015).

El género *Cladosporium* se ha identificado en varias regiones bioclimáticas, por su predominio en el aire y su capacidad de crecer sobre diversos sustratos (Borrego, 2012; Segers et al., 2015, 2017). Dentro de este género se encuentran especies patógenas oportunistas, alergénicas, saprobias, invasores secundarios de plantas y endófitos (Vieira et al 2001; Zalar et al., 2007; Hamayun et al., 2009; Bensch, 2012; Kadaifciler & Demirel, 2018).

A lo largo del tiempo la contaminación ambiental provocada por el uso de agroquímicos ha sido un tema de gran interés para la comunidad científica debido a los efectos que estos generan en la salud humana y al ecosistema. Los extractos vegetales a partir de las hojas de *Tectona grandis* L. (teca) son un producto orgánico de control que pueden contribuir a la inhibición del crecimiento de hongos fitopatógenos de manera saludable, esto ha llevado a enfoques biotecnológicos para el manejo de plagas en el campo agrícola. A través de esta investigación se buscan más alternativas que sean viables para los productores, buscando disminuir el impacto ambiental.

Teniendo en cuenta los antecedentes explicados, el objetivo general de este trabajo de investigación se puede formular de la siguiente manera: Evaluar el efecto del extracto acuoso obtenido mediante extracción asistida por ultrasonidos a partir de las hojas de *Tectona grandis* L. sobre el crecimiento del hongo fitopatógeno *Cladosporium cladosporioides*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS/METODOLOGÍA

2.1 ÁREA DE ESTUDIO

El estudio fue ejecutado en las instalaciones de la Universidad Estatal Amazónica, usando como material foliar las hojas de teca, recolectadas en la provincia de El Oro, cantón Arenillas (río blanco-vía a la Cuca). El cual tuvo una duración de 1 mes a partir del primero de junio del 2022.

2.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente proyecto pertenece a una investigación aplicada, fundamentada en la experimentación y revisión bibliográfica.

2.3 MÉTODO DE INVESTIGACIÓN

Se empleó un método de extracción asistida por ultrasonidos de polifenoles a partir de sólidos pulverulentos de hojas de teca, y se realizó un diseño experimental llamado Central Composite, a través del software “Design Expert” para la evaluación del efecto del extracto

en el crecimiento del hongo fitopatógeno *Cladosporium cladosporioides*.

2.4 EQUIPOS, MATERIALES, UTENSILIOS, REACTIVOS E INTRUMENTOS.

- Balanza analítica ADAM. Alemania
- Balanza técnica THOMAS Scientific. TSXB4200C. Estados Unidos.
- Baño ultrasónico. BRANSON. Estados Unidos.
- Micropipeta Eppendorf Research Plus 10 – 100 μL. Alemania
- Espátulas de laboratorio
- Viales de plástico. Eppendorf 1 mL
- Autoclave
- Molino de cuchillas. Malla 0.5 mm. Thomas-Weley. Estados Unidos.
- Estufa. Barnstead. Estados Unidos.
- Agua destilada
- Medio de cultivo-Potato Dextrose Agar (PDA)
- Cepas de los hongos *Cladosporium cladosporioides*
- Fungicida Daconil 720
- Material foliar de *Tectona grandis* L.
- Plancha de calentamiento. Boeco. Alemania
- Cristalería y material volumétrico (cajas petri, vaso de precipitación, probeta, pipeta, balón de vidrio, botellas matraces).

2.5 PROCEDIMIENTO

2.5.1 EXTRACCIÓN ACUOSA DE POLIFENOLES DE *Tectona grandis* L.

Se realizó la colecta de *Tectona grandis* (teca) en Arenillas, provincia de El Oro, con un buen clima y con colecta de las hojas jóvenes, las que no estuvieran muy expuestas al sol, llenando un saco grande para obtención de mayor material a extraer.

Se procedió a lavar el material foliar con agua corriente y agua destilada, después se lo pesó y se realizó un secado al aire libre por 24 horas, con un volteo y regresando 24 horas después; posteriormente se lo sometió a secado en estufa a 50°C por 24 horas. El material foliar seco se llevó a pulverizar en el Centro Experimental de Investigación y Producción Amazónica (CEIPA).

Se pulverizaron las hojas secas en molino de cuchillas con una abertura de malla de 0.5 mm a nivel 3 de velocidad (Tabla 1); los sólidos pulverulentos se recolectaron en fundas “ziploc” y se los etiquetó con nombre y fecha para luego conservarlos en desecadora hasta su utilización.

Tabla 1.

Peso del material foliar después del secado y triturado.

MATERIAL FOLIAR *Tectona grandis* L.	PESO DESPUÉS DEL SECADO AL AIRE LIBRE *(g)*	PESO DESPUÉS DEL SECADO EN ESTUFA *(g)*	PESO DEL MATERIAL FOLIAR TRITURADO *(g)*
BANDEJA 1	94.91g		
BANDEJA 2	276.84g		
BANDEJA 3	254.53g	**Funda 1 con material foliar** 394.15g	
BANDEJA 4	80.79g		
BANDEJA 5	91.26g		**Fundas de hojas trituradas** 1099.84g
BANDEJA 6	85.85g		
BANDEJA 7	98.00g		
BANDEJA 8	86.44g		
BANDEJA 9	101.23g	**Funda 2 con material foliar** 890.65g	
BANDEJA 10	88.04g		
BANDEJA 11	137.80g		
BANDEJA 12	94.59g		
TOTAL	*1490.28g*	*1284.8g*	

Por su mayor eficacia y menor tiempo de operación se utilizó la extracción asistida por ultrasonidos, para ello se pesaron 50 g de los sólidos pulverulentos de *T. grandis*, se colocaron en un balón de vidrio de capacidad de un litro y se pusieron en contacto con 500 mL de agua destilada. Se realizó la extracción a 30 °C, durante 40 minutos, a máxima potencia de ultrasonido. Luego, se realizó la filtración con el uso de papel filtro para obtener el extracto acuoso.

Al culminar, para medir el rendimiento de los extractos acuosos de la planta y poder dosificarlos en el análisis microbiológico, se procedió a calcular los sólidos totales disueltos, según la Ecuación 1.

Ecuación 1. Fórmula de Sólidos Disueltos Totales (SDT)

$$SDT = (A - B) \times 1000 \; Vol\,(mL)$$

Donde: A = Peso del residuo seco más crisol en mg

B = Peso del crisol en mg

Vol (mL) = Volumen de Muestra (mL de la muestra)

2.5.2 EVALUACIÓN DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE *Tectona grandis* L. SOBRE EL HONGO FITOPATÓGENO *Cladosporium cladosporioides*

Luego de la selección del hongo fitopatógeno (*Cladosporium cladosporioides*), se procedió a esterilizar los materiales a usar en la autoclave por 2 horas, así mismo se empleó alcohol para esterilizar el área donde se realizó la práctica experimental, posteriormente se preparó el medio de cultivo (M.C.) dentro de botellas utilizando 9.5 g de Potato Dextrose Agar (PDA) en tres cantidades diferentes (200 mL, 225 mL, 247 mL) de agua destilada, en igual forma para diluir el PDA con ayuda de una barra de agitación; se colocó las botellas en el plato agitador luego se agregaron tres porcentajes de extracto de teca (E.T.) a cada uno de los medios de cultivos preparados: 50 mL (100%) E.T para 200 mL M.C, 25 mL (51.5%) E.T para 225 mL M.C y 3 mL (3%) E.T para 247 mL M.C.

Se vertió la mezcla con medio PDA enriquecido más la mezcla homogénea del extracto acuoso obtenido en las cajas Petri con diferentes porcentajes de concentración (100%, 51.5%, 3%,), se utilizaron 2 métodos (siembra por suspensión e inóculo de colonias).

Para realizar el primer tratamiento se usaron 15 cajas Petri aplicando el método de siembra por suspensión en diferentes concentraciones empleando un hisopo con el hongo (*Cladosporium cladosporoides*) (Tabla 2). El mismo hisopo entró en contacto con agua común contenida en un tubo de ensayo y usando un mechero como esterilizante, para luego proceder a embadurnar la superficie del medio, produciendo una película sobre el mismo.

Tabla 2.

Tratamientos evaluados en porcentajes de concentración de *Tectona grandis* L.

% DE CONCENTRACIÓN ***Tectona grandis* L.**			***TRATAMIENTOS*** ***Cladosporium cladosporioides***	***MÉTODO DE SIEMBRA***
100%	**51.5%**	**3%**	***1 y 2***	
1	**1**	**1**	Tratamiento 1	Por suspensión
2	**2**	**2**	Tratamiento 1	Por suspensión
3	**3**	**3**	Tratamiento 1	Por suspensión
4	**4**	**4**	Tratamiento 1	Por suspensión
5	***5***	**5**	Tratamiento 1	Por suspensión

Para el segundo tratamiento se utilizaron 25 cajas Petri y se lo realizó a través del método de inóculo de colonias en los cuales 9 muestras estaban al 100%, 8 muestras al 51.5% y 8 muestras al 3% de concentración (Tabla 3), para este proceso se realizó la operación cerca de un mechero encendido, se calentó un sacabocado que sirvió para perforar un orificio la muestra del primer tratamiento y con la ayuda de un asa previamente calentado se retiró el disco de 8mm de diámetro del hongo y se lo sembró en el medio de cultivo de cada caja Petri.

Tabla 3.

Tratamientos evaluados en porcentajes de concentración de *Tectona grandis* L.

% DE CONCENTRACIÓN Tectona grandis L.			*TRATAMIENTOS Cladosporium cladosporioides 1 y 2*	*MÉTODO DE SIEMBRA*
100%	**51.5%**	**3%**		
1	**1**	**1**	Tratamiento 1	Por inóculo de colonias
2	**2**	**2**	Tratamiento 1	Por inóculo de colonias
3	**3**	**3**	Tratamiento 1	Por inóculo de colonias
4	**4**	**4**	Tratamiento 1	Por inóculo de colonias
5	**5**	**5**	Tratamiento 2	Por inóculo de colonias
6	**6**	**6**	Tratamiento 2	Por inóculo de colonias
7	**7**	**7**	Tratamiento 2	Por inóculo de colonias
8	**8**	**8**	Tratamiento 2	Por inóculo de colonias
9			Tratamiento 2	Por inoculo de colonias

Se prepararon cuatro controles, dos de ellos con el fungicida químico Daconil 720 por el método de siembra por suspensión y dos con extracto de teca con el método de siembra de inóculo de colonias (Tabla 4), para dos de los cuales se usó un disco 0.5 mm de diámetro de papel filtro y colocándolo en el centro de la caja Petri agregando 100µL (0.1 mL) de extracto de teca pura, de la misma manera se usó una porción en forma circular de hongo, en el cual se vertió 50µL (0.5 mL) de fungicida químico con ayuda de una micropipeta de 5-100 µL.

Tabla 4.

Controles: positivo (+) y negativo (-)

Controles	*TRATAMIENTOS Cladosporium cladosporioides 1 y 2*	*MÉTODO DE SIEMBRA*
Control químico* 1 *(+)	Tratamiento 1	Por suspensión
Control químico* 2 *(+)	Tratamiento 2	Por suspensión
Control de extracto* 1 *(-)	Tratamiento 1	Por inóculo de colonias
Control de extracto* 2 *(-)	Tratamiento 1	Por inóculo de colonias

Luego de 24 horas se procedió a revisar el nivel de crecimiento del hongo, el cual había colonizado en los diferentes porcentajes de concentración utilizados en las cajas Petri, uno más que otro, es por ello que se recurrió a realizar una nueva siembra del hongo con porcentajes de mayor concentración de extracto de teca (E.T.): 200 mL (200%) E.T. para 50 mL M.C., 150 mL (150%) E.T. para 100 mL M.C. y 80 mL (100%)

E.T. obtenido anteriormente para 150 mL M.C. Finalmente se incubaron todas las muestras a 30 ±1 °C en condiciones de oscuridad.

Se ejecutó un diseño de 14 réplicas nuevas en las cuales 5 muestras al 200 %, 5 muestras al 150 % y 4 muestras al 100 % (Tabla 5) esto con el fin de probar que a estos niveles de concentraciones el hongo se pudiera inhibir, elaborando el mismo método de inoculo de colonia y usando el primer tratamiento para esperar resultados a las 24 horas.

Tabla 5.

Tratamientos evaluados en porcentajes de concentración de *Tectona grandis* L. (réplicas nuevas).

% DE CONCENTRACIÓN Tectona grandis L.			*TRATAMIENTOS Cladosporium cladosporioides 1*	*MÉTODO DE SIEMBRA*
200%	**150%**	**100%**		
1	**1**	**1**	Tratamiento 1	Por inóculo de colonias
2	**2**	**2**	Tratamiento 1	Por inóculo de colonias
3	**3**	**3**	Tratamiento 1	Por inóculo de colonias
4	**4**	**4**	Tratamiento 1	Por inóculo de colonias
5	**5**	**5**	Tratamiento 1	Por inóculo de colonias

Posteriormente, a las 48 horas se regresó para observar el crecimiento de la primera siembra y la réplica de la segunda siembra, se realizó el conteo y registro d para determinar en qué porcentaje de concentración se generó una mejor inhibición del hongo (*Cladosporium cladosporioides*).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se calcularon los sólidos totales disueltos, según la ecuación 1, descrita en el procedimiento, y resultaron tener un valor de 1.61% (gramos de sólido disuelto por cada 100 gramos de extracto).

Se utilizó la extracción de polifenoles asistida por ultrasonidos (EAU), porque entre las diversas tecnologías, la EAU se destaca como una alternativa innovadora y es considerada como una tecnología de fácil manejo, segura, económica, reproducible y sustentable, al requerir una inversión moderada de energía y disolventes (Soria & Villamil 2010; Vieira et al. 2013). Se escogió un diseño experimental Central Composite ya que este diseño tiene un mínimo de réplicas y además permite evaluar resultados con un ahorro de tiempo y de recursos a diferencia de otros diseños experimentales factoriales los cuales conllevan una gran cantidad de experimentos.

Los extractos de teca han sido investigados con la ayuda de técnicas como espectroscopia ultravioleta-visible (UV-VIS), espectroscopía de infrarrojos (IR), espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN), espectrometría de masas (MS), y se han identificado metabolitos secundarios como: alcaloides, esteroides, glucósidos fenólicos, triterpenos, flavonoides, aceites esenciales, antraquinonas, algunos pigmentos tales como: tectoleafquinona (rojo), antratectona (naranja), y tectoquinona (amarillo) (Giri & Varma, 2015). Una de las características que la hace tan atractiva es su resistencia a plagas y enfermedades que suelen afectar a otras especies vegetales, dando lugar a que se generen investigaciones que permitan determinar y evaluar su composición química (Blanco et al., 2014)

Algunos autores señalan que las pérdidas directas en rendimiento en productos agrícolas causadas por patógenos, animales y malezas oscilan entre el 20% y el 40%; mientras que otros estiman que al discriminar por continentes las pérdidas pueden variar entre el 29% y el 43% (Castaño-Zapata, 2015). Aunque las cifras anteriores corresponden a intervalos muy amplios, en general los autores citan que existen otras pérdidas tanto directas como indirectas las cuales hacen que estos porcentajes pueden ser más elevados cuando se contempla todo el sistema productivo y sus interacciones; algunas son, por ejemplo, la pérdida en calidad del producto final, infestación del suelo, pérdidas y producción de toxinas en postcosecha por parte de algunos patógenos presentes en productos almacenados, incrementos en costos de producción, de manejo e incluso la predisposición de las plantas a otras enfermedades (Savary et al., 2012).

El género *Cladosporium* es considerado por muchos especialistas como uno de los géneros fúngicos prevaleciente en el mundo (Levetin, 2002a), ya que puede localizarse tanto en el aire como en el suelo. Está constituido por alrededor de 500 miembros con 40 especies oficialmente nombradas y 180 cepas sin nombre que han sido reportadas alrededor del mundo (Alonso, 2012).

Estas especies polifiléticas son caracterizadas por su morfofisiología heterogénea y por su extraordinaria capacidad para colonizar hospederos inertes y muchas especies de plantas (Bensch et al., 2012). A pesar de que muchos de estos hongos son conocidos por ser endófitos comunes, algunas especies pueden actuar como organismos oportunistas asociados a manchas foliares y otras lesiones similares en frutos de plantas con importancia agronómica (Schubert, 2005).

La investigación del control de las pudriciones postcosecha ocasionadas por algunos hongos fitopatógenos ha sido el enfoque principal desde algunos años, con el fin de buscar nuevos métodos de alternativas naturales basándonos específicamente en los extractos acuosos de especies de plantas con propiedades antifúngicas, en este caso *Tectona grandis* L., se han realizado varios estudios donde el extracto acuoso de *Tectona grandis* L., ha dado un resultado positivo contra la inhibición de algunos hongos, como en el caso de *Aspergillus niger*, es por ello, que se realizó esta investigación con el hongo *Cladosporium*

cladosporioides para el análisis del efecto del extracto acuso de *T. grandis* sobre este hongo.

3.1 EFECTO DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE *Tectona grandis* L. Y FUNGICIDA QUÍMICO SOBRE EL HONGO FITOPATÓGENO *Cladosporium cladosporioides*

De lo descrito anteriormente los dos métodos que se usaron (siembra por suspensión e inóculo de colonias) como técnicas de medio y extracto y disco con extracto con el fin de determinar los efectos de los extractos acuosos de *Tectona grandis* y fungicida químico sobre el hongo fitopatógeno, se puede establecer que mediante un disco se quiere ver la inhibición del crecimiento del microorganismo que a su vez contiene extracto y si este es efectivo para el crecimiento del hongo, al mismo tiempo arroja tres resultados, uno si es resistente no se da ningún halo de inhibición de 0.1 cm y mejor ocupa todo el espacio, un sensible con pequeña distancia de 2.5 y 3 cm en el medio y moderado formando un halo de inhibición de 1.5 cm en el medio; si el disco resulta bueno no va a permitir que el hongo lo invada porque si este tiene efecto antifúngico se va a producir un halo de inhibición que evitará el crecimiento en el mismo y permite comprobar la inhibición del crecimiento de 2.5 a 3 cm y mostrando sensibilidad determinando que es efectivo.

El halo de inhibición que se forma en el medio permite obtener un resultado de la resistencia del hongo ya sea que por inhibición de extracto a cualquier concentración se pudo inhibir el hongo usando el fungicida

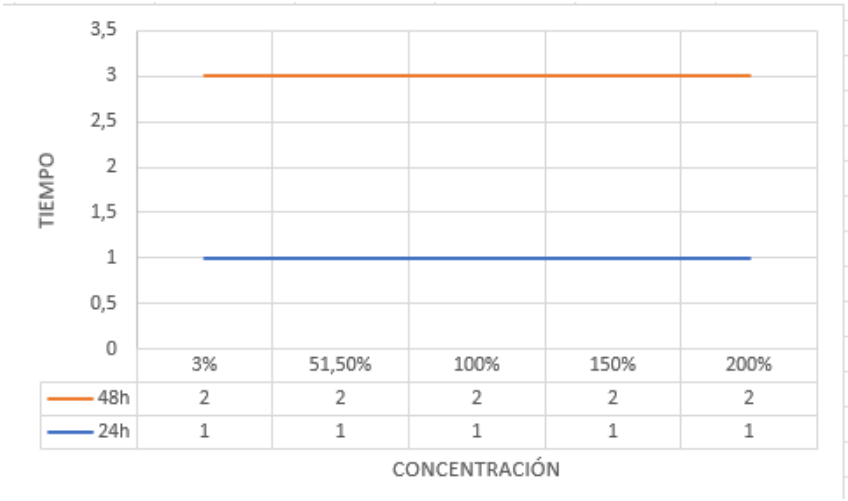
Con el medio y el extracto no se debería observar ningún tipo de crecimiento del organismo debido a que está envenenado y es potente esto genera un resultado cuantitativo (positivo o negativo) a partir de la concentración para determinar si crece o no crece y si este llega a crecer denotar la concentración a lo que fue y en la hubo desarrollo de microorganismos, pero se observó lo contrario porque si se dio crecimiento de microorganismos resistentes al medio a cualquier concentración dando como resultado un dato positivo debido a la resistencia del microorganismo a este medio.

Esto se puede deber a que el disco no tuvo suficiente extracto en las diferentes concentraciones permitiendo el desarrollo del microorganismo por lo que no es efectivo el antifúngico que se usó a la concentración ensayada; para poder establecer concentraciones que permitan un control, en caso de que efectivamente se pueda demostrar una sensibilidad, se necesitaría en futuras investigaciones contar con un liofilizador que permita obtener extractos secos que mantengan la composición química y que puedan ser dosificados a mayores concentraciones.

Estas técnicas sirvieron para determinar el desarrollo del hongo si este crece el medio no sería factible, pero si el hongo no crecía el medio servía y daba la oportunidad a que actuara el extracto ante el crecimiento de microorganismos y a la formación de un halo de inhibición que le indicaba a que concentración es que se dio esta inhibición, pero no se dio tal resultado estimado.

Se estima que en las diferentes concentraciones en un tiempo de 24 horas no se pudo observar ningún cambio en el microorganismo frente al extracto de Teca ya que el crecimiento era notorio. A partir de las 48 horas se observó que tiene el mismo comportamiento de crecimiento (Figura 1).

Figura 1. Tiempo aproximado en las diferentes concentraciones de extracto de Teca



3.2 CONTEO DE COLONIAS

Se realizó un conteo de colonias de 24 horas a 48 horas determinando que en las próximas 24 horas se pudo observar que el crecimiento del microorganismo fue rápido en cada uno de los medio en las siguiente concentraciones de 100%, 51.5%, 3% de extracto de teca por lo que se procedió a contar las colonias, para este conteo se trazó una cruz y se dedujo la cantidad de colonias que se formaban en cada trayecto, puesto que recién se estaba produciendo el crecimiento fue sencillo contarlas (Tabla 6). En las próximas 48 horas las primeras muestras con la concentración al 100% aplicadas con el tratamiento 1, se puede determinar que el crecimiento fue demasiado rápido, de igual forma se produjo el crecimiento con en el tratamiento 2 siendo las muestras 1, 2, 3, 4, 7 las que presentaban mayor población de colonias; de igual manera en la concentración al 51.5% y con dos tratamientos en las 8 muestras se produjo el mismo resultado, aunque en las muestras 2, 6, 7, 4 se observó mayor crecimiento y expansión; y en las muestras con una concentración al 3% y mismos tratamientos se determina de igual manera un mayor crecimiento en la muestra 1, 2, 4, 8 (Tabla 6).

Tabla 6.

Conteo de colonias

RÉPLICAS	***NÚMERO DE COLONIAS 24 horas***			**NÚMERO DE COLONIAS 48 horas**		
	100%	**51.5%**	**3%**	**100%**	**51.5%**	**3%**
1	20	6	30	65	12	40
2	15	50	60	52	73	171
3	10	20	4	47	29	10
4	12	35	10	41	47	20
5	4	8	13	11	19 1 *con hongo contaminante*	29
6	4	47	9	7	51	16
7	25	20	18	51	26	26
8	8	20	35	19	28	55
9	8			19		

Para las 48 h se pudo hacer dos observaciones ya que se realizó una nueva dosificación para probar que a una mayor concentración se podría inhibir el hongo. Las muestras replicadas a una mayor concentración mostraron un crecimiento de colonias grandes siendo estas en las concentraciones de 200 % y 150% y con la presencia de un hongo contaminante de color verdoso que de igual forma se encontraba distribuido por todo el medio, pero en la cuarta muestras en la que usó extracto congelado sobrante de la primera aplicación se puede decir que el microorganismo creció de manera lenta formando pocas colonias (Tabla 7).

Tabla 7.

Conteo de colonias replicado a mayor concentración

RÉPLICAS NUEVAS	**NÚMERO DE COLONIAS 24 horas**		
	200%	**150%**	**100%**
1	17 10 *con hongo contaminante*	37 2 *con hongo contaminante*	3
2	10 5 *con hongo contaminante*	10 7 *con hongo contaminante*	18
3	11 9 *con hongo*	5 9 *con hongo*	6

	contaminante	*contaminante*	
4	12 3 *con hongo contaminante*	9 5 *con hongo contaminante*	32 2 *con hongo contaminante*
5	15 8 *con hongo contaminante*	12 10 *con hongo contaminante*	

A través de este conteo se trató de determinar qué pasa en un lapso de tiempo con el microorganismo y a qué concentración se puede presentar una inhibición, cuánto se ha expandido su crecimiento o si este no lo ha hecho y el conteo determina que si a mayores concentraciones de extracto se puede generar un crecimiento tardío del microorganismo.

4. CONCLUSIONES

La extracción asistida por ultrasonido resultó efectiva para la obtención de extractos acuosos de *Tectona grandis* L., con un rendimiento, sobre la base de los sólidos totales disueltos de 1,61% (gramos de sólido disuelto por cada 100 gramos de extracto).

Los extractos acuosos de *Tectona grandis* L., a las concentraciones ensayadas, no tuvieron un efecto inhibitorio sobre la cepa del hongo *Cladosporium cladosporioides*, sin embargo, las diferencias observadas en cuanto a crecimiento a las diferentes concentraciones indican la necesidad de un estudio posterior a mayores dosis de extracto.

5. REFERENCIAS

Adriani, A. N. P., & Ngurah, D. S. (2012). Antifungal activity of teak (Tectona grandis L.) leaf extract against Arthrinium phaeospermum (Corda) M.B. Ellis, the cause of wood decay on Albizia falcataria (L.) Fosberg. Journal of Issaas, 18(1), 62–69.

Agrios, G .N, 2005, fitopatología, 2da edición. México, Limusa, 952 p.}

Agrios, G.N. (2005) Plant Diseases caused by Fungi. Plant Pathology. Fifth Edition. Elsevier Academia Press, 724-820.

Aleuxopoulus, C. & Mims, C. (1985). Introducción a la Micología. Ed. Omega.

Alonso S. F. B. (2012). Cladosporium: género fúngico que deteriora soportes documentales y afecta a la salud del hombre. Boletín del Archivo Nacional 20:104-118.

Armijos, L. (2014). Modelo de negocios y fuentes de financiamiento a través de un fideicomiso de inversión en el cultivo de teca (*Tectona grandis*). Qualitas, 7, 4- 29. Obtenido

de .https://www.unibe.edu.ec/wpcontent/uploads/2017/08/7.1_Modelo_negocios.pdf

Arraiza, M. P., González-Coloma, A., Andrés, M. F., Berrocal-Lobo, M., Domínguez-Núñez, J. A., Jr, A. D. C., Navarro-Rocha, J., & Calderón-Guerrero, C. (2018). Antifungal Effect of Essential Oils. In (Ed.), Potential of Essential Oils. IntechOpen.

Barzola - Miranda, S. E., Casariego - Año, A., Nuñez. de Villavincencio Margarita, & Rodríguez - Sánchez, J. L. (2018). Optimización de las condiciones de extracción de los Pigmentos de las hojas de teca (Tectona grandis) Utilizando la metodología de superficie de respuesta. Ciencia y Tecnología de Alimentos, 28(2), 11–16.

Bensch K., Braun U., Groenewald J.Z. and Crous P.W. (2012). The genus Cladosporium. Studies in Mycology 72:1-401.

Blanco-Florez, J., Fernando-Trugilho, P., Tarcisio-Lima, J., Gherardi-Hein, P. R., & Moreira da Silva, J. R. (2014). Characterization of young wood Tectona grandis L. f. planted in Brazil. MADERA Y BOSQUES, 20(1), 11-20.

Borrego, S. (2012. Cladosporium: género fúngico que deteriora soportes documentales y afecta a la salud del hombre. Bol. Arch. Nac. /Habana. 20: 104-118.

Cantrell, C.L.; Dayan, F.E.; Duke, S.O. (2012). Natural Products As Sources for New Pesticides. Journal of Natural Products, 75(6), 1231-1242

Castaño-Zapata, J. 2015. Principios básicos de hongos fitopatógenos. Editorial Universidad de Caldas. 360 p

Clausen, C.A. (2010). Biodeterioration of Wood. In: Wood Hanbook, Wook as an engineering material. Chapter 14. Centennial Edition. General Technical report FPL. Madison. Wi 16p.

Crous, P.W., H.J. Schroers, J.Z. Groenewald, U. Braun, et al. (2006) Metulocladosporiella gen. nov. for the causal organism of Cladosporium speckle disease of banana. Mycol. Res. Journal. 110: 264–275.

Crous, P.W., U. Braun, y J. Z. Groenewald (2007a) Mycosphaerella is polyphyletic. Stud. Mycol. 58: 1–32. Crous, P.W., U. Braun, K. Schubert y J.Z. Groenewald (2007b) Delimiting Cladosporium from morphologically similar

Diallo, A., Gbeassor, M., Vovor, A., Eklu-Gadegbeku, K., Aklikokou, K., Agbonon, A.,

Abena, A. A., de Souza, C., & Akpagana, K. (2008). Effect of Tectona grandis on phenylhydrazineinduced anaemia in rats. Fitoterapia, 79(5), 332–336.

Encina, F., y E. Piontelli (2009) Hongos filamentosos en la epidermis del fruto del tomate: énfasis en el género Cladosporium

Gan, H.; Wickings, K. (2017). Soil ecological responses to pest management in golf turf vary with management intensity, pesticide identity, and application program. Agriculture, Ecosystems & Environment, 246: 66-77.

Giri, S. P., & Varma, S. B. (2015). Analgesic and antiinflammatory activity of Tectona grandis Linn. stem extract. Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology, 26(5), 479–484.

Griffiths, S., C. H.Mesarich, E. J.Overdijk, B. Saccomanno, et al. (2018) Down-regulation of cladofulvin biosynthesis is required for biotrophic growth of Cladosporium fulvum on tomato. Mol. Plant. Pathol. 19(2): 369-380.

Hamayun, M., S.A. Khan, N. Ahmad, D.S. Tang, et al. (2009) Cladosporium sphaerospermum as a new plant growthpromoting endophyte from the roots of Glycine max (L.) Merr. World J. Microb. Biot. 25(4): 627-632.

Ho, M.H.M., R.F. Castañeda, F.M. Dugan, y S.C. Jong (1999) Cladosporium and Cladophialophora in culture: descriptions and an expanded key. Mycotaxon, 72: 115-157.

Hosni, K.; Hassen, I.; Sebei, H.; Casabianca, H. 2013. Secondary metabolites from Chrysanthemum coronarium (Garland) flowerheads: Chemical composition and biological activities. Industria Crops and Products. 44: 263-271.

Indacochea, L. (2018). Diversidad de escolitidos en plantaciones de Tectona grandis L.f. (teca) en la provincia de Esmeraldas, año 2018,. (Tesis de grado). Universidad Tecnica Estatal de Quevedo, Quevedo.

Jaramillo, F.S. (2019) Efecto del extracto acuoso de hojas de Tectona grandis L. sobre el crecimiento de los hongos Rhizopus stolonifer y Aspergillus niger. Proyecto de Innovación. Maestría en Agronomía. Universidad Estatal Amazónica.

Kadaifciler, D.G., & R. Demirel (2018) Fungal contaminants in man-made water systems connected to municipal water. J. Water. Health. 16(2): 244-252.

Kryczyński S., & Z. Weber (2011) Phytopathology. Diseases of crop plants (Volume 2). PWRiL: Poznań, 2: 294-298, [In Polish].

Levetin, E. (2002a): «Aerobiology of agricultural pathogens». In: Manual of Environmental Microbiology, 2th edition (Hurst, C. J., Crawford, R. L., McInerney, M. J., Knudsen, G.R., y Stetzenbach, L.D., eds), ASM Press, Washington, DC. pp. 884-897. (2002b): «Bioaerosols in agricultural and outdoor settings». In: Encyclopaedia of Environmental Microbiology (Bitton, G., ed.), John Wiley and Sons, New York, pp. 404-416.

Mahesh S. Krishna, & Jayakumaran Nair A. (2010). Antibacterial, Cytotoxic and Antioxidant Potential of Different Extracts from Leaf, Bark and Wood of Tectona grandis. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research, 2(2), 155–158.

Martínez-Romero, D.; Serrano, M.; Bailén, G.; Guillén, F.; Zapata, P.J.; Valverde, J.M.; Castillo, S.; Fuentes, M.; Valero, D. (2008). The use of a natural fungicide as an alternative to preharvest synthetic fungicide treatments to control lettuce deterioration during postharvest storage. Postharvest Biology and Technology. 47 (1), 54-60.

Miranda, N., & Quiñonez, G. (2018). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos obtenidos a partir de los residuos de corteza de la teca.

Monsalve-Paredes, M., & Bello-Alarcón, A. (2020). Evaluación antimicrobiana de extractos obtenidos de los residuos de la corteza de Teca (Tectona grandis L.). CIENCIA UNEMI, 13(32).

Navas, J. A. (2015). Estudio de fertilización N-P-K en cultivo de teca (Tectona grandis). (Tesis de grado). Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Guayaquil.

Pardo, T. (2013). Evaluación del efecto de la concentración de anhídrido acético, temperatura y tiempo en la reacción de acetilación para la modificación química de Tectona grandis y Gmelina arborea.

Pinzón, O. (2007). Problemas fitosanitarios en plantaciones forestales en Colombia. Generalidades. (En línea). Colombia. Consultado el 26 de sep del 2008. Disponible en: http://www.cerambycoidea.com/titles/pinzonflorian2004.pdf

Quispe, F. E., Ruíz, R. E., Isidrón, M. P., García, M. R., & Santana, R. C. (2010). Efecto

alelopático de los extractos acuosos de Tectona grandis L. y Tagetes erecta L. sobre la germinación de cultivos de interés agrícola. Centro Agrícola, 37(1), 61-66.

Quispe, F. (2017). Los 10 hongos más relevantes en fitopatología.

Savary, S.; Ficke, A.; Aubertot, J.N.; Hollier, C. 2012. Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security. Food Security 4, 519-537.

Rudert, A., & J. Portnoy (2017) Mold allergy: is it real and what do we do about it? Expert. Rev. Clin. Immunol. 13(8): 823-835.

Rondón, A.; Arnal, E.; Soto, E. y Solórzano, R. 1995. El manejo integrado de enfermedades en algunos frutales de ciclo corto. FONAIAP 12: 45-49.

Schubert K. 2005.Taxonomic revision of the genus Cladosporium s. lat. 3. A revision of Cladosporium species described by J.J. Davis and H.C. Greene (WIS). Mycotaxon 92:55-76.

Segers, F.J., M. Meijer, J. Houbraken, R.A. Samson, et al. (2015) Xerotolerant Cladosporium sphaerospermum are predominanton indoor surfaces compared to other Cladosporium species. PloS one. 10(12): 1-15.

Segers, F.J., K.A. van Laarhoven, H.A. Wösten, y J. Dijksterhuis (2017) Growth of indoorfungi on gypsum. J. Appl. Microbiol. 123(2): 429-435.

Soria, A.C. & Villamiel, M., 2010. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food : a review. , 21

Spardo, D., M. L. Gullino, (2004). State of the art future prospects of biological control of postharvest fruit diseases. International Journal of Food Microbiology 91: 185-194.

Tendal, K., & A.M. Madsen (2011) Exposure to airborne microorganisms, hyphal fragments, and pollen in a field of organically grown strawberries. Aerobiologia, 27(1): 13-23.

Temperini, Carolina & Pardo, Alejandro & Pose, Graciela. (2018). Diversity of airborne Cladosporium species isolated from agricultural environments of northern Argentinean Patagonia: molecular characterization and plant pathogenicity. Aerobiologia. 34.

10.1007/s10453-018-9509-7.

Urbina. C. M. 2011. Enfermedades causadas por hongos, fitopatología general, Universidad agropecuaria del trópico seco, Estelli, 21 p.

Vieira, M.R., A. Milheiro, & F.A. Pacheco (2001) Phaeohyphomycosis due to Cladosporium cladosporioides. Sabouraudia, 39 (1): 135-137.

Yew, S.M., C.L. Chan, Y.F. Ngeow, Y.F. Toh, et al. (2016) Insight into different environmental niches adaptation and allergenicity from the Cladosporium sphaerospermum genome, a common human allergy-eliciting Dothideomycetes. Sci. Rep. 6: 27008.

Zalar, P.D., G.S. De Hoog, H.J. Schroers, P.W. Crous, et al. (2007) Phylogeny and ecology of the ubiquitous saprobe Cladosporium sphaerospermum, with descriptions of seven new species from hypersaline environments. Stud. Mycol. 58: 157-183.

Zhang, Z.B., Q.G. Zeng, R.M. Yan, Y. Wang, et al. (2011) Endophytic fungus Cladosporium cladosporioides LF70 from Huperzia serrata produces Huperzine A. World J. Microb. Biot. 27(3): 479-486.

Zhang, P., P.P. Zhou, y L.J. Yu (2009) An endophytic taxolproducing fungus from Taxus media, Cladosporium cladosporioides MD2. Curr. Microbiol. 59(3): 227.genera. Stud. Mycol. 58: 33-56.

Yamashiro, T. 1991. Principais doencas fúngicas e bacterianas no maracujazeiro, encontradas no Brasil. In: Sao José, A., Ferreira, F., Vaz, R. (Eds.) A cultura do Maracuja no Brasil, FUNEP, Jaboticabal, pp. 169 – 174.

6. ANEXOS

Evidencia fotográfica del procedimiento realizado.

Fotografía 1. Recepción del material foliar



Fotografía 2. Molinado del material foliar seco



Fotografía 3 Sólidos pulverulentos obtenidos de *T. grandis*



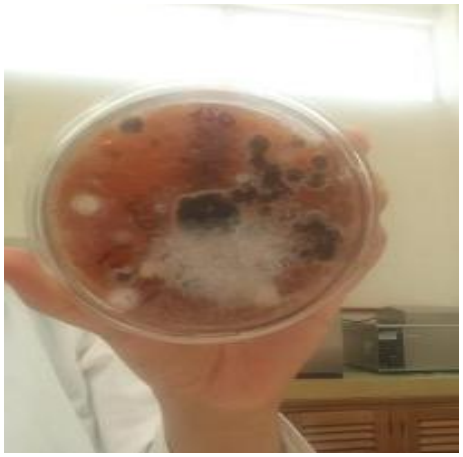
Fotografía 4. Extracción asistida por ultrasonidos



Fotografía 5. Evaluación de la actividad antifúngica



Fotografía 6. Crecimiento de *Cladosporium cladosporoides en el* medio PDA



7. MARCO TEORICO

Fitopatología

Según Urbina, (2011) y Agrios (2005), la fitopatología es el estudio de las enfermedades de las plantas. Comprende la investigación de agentes infecciosos (hongos, virus, bacterias, nematodos) y condiciones ambientales adversas (temperatura, luz, pH, agua, nutrientes del suelo) que ocasionan enfermedades.

Aunque la fitopatología como ciencia trata de aumentar el conocimiento acerca de las causas y del desarrollo de las enfermedades de las plantas, es también una ciencia que tiene un objetivo más práctico. Dicho propósito es desarrollar métodos de detección precisa y posteriormente generar control para todas las enfermedades de las plantas, partiendo del reconocimiento de el o los agentes causales (Agrios, 2005).

Hongos

Los hongos pertenecen al grupo monofilético que conforman el Reino Fungí. Son organismos eucariotas, unicelulares o filamentosos. Su pared celular es rica en quitina y α-glucanos (Aleuxopoulus & Mims, 1985).

Según Agrios, (2005); Urbina, (2011), los hongos son pequeños organismos productores de esporas, generalmente microscópicos, eucarióticos, ramificados y a menudo filamentosos que carecen de clorofila y que tienen paredes celulares que contienen quitina, celulosa, o ambos componentes. La mayoría de las 100.000 especies de hongos conocidas son estrictamente saprofitas y viven sobre la materia orgánica muerta, a la que descomponen. Alrededor de 50 especies de hongos producen enfermedades en el hombre y casi el mismo número ocasiona enfermedades en los animales, la mayoría de las cuales son enfermedades

superficiales de la piel o de sus apéndices. Se considera que más de 8.000 especies de hongos producen enfermedades en las plantas.

Los hongos fitopatógenos causan enfermedades en las plantas, definir cuáles de ellos es de mayor relevancia, varía según las prioridades científicas y económicas de una región geográfica; algunos representan altos riesgos para la seguridad alimentaria o son modelos de estudio en temas relacionados con factores epidemiológicos y genética vegetal. La mayoría posee mecanismos exitosos de diseminación, variabilidad genética y amplia gama de hospedantes (Quispe, 2017).

Los hongos fitopatógenos emplean varios mecanismos para reconocer y adherirse al hospedero. Estos entran a la planta a través de heridas, estomas o por penetración directa a través de estructuras especializadas como apresorios (Yew et al., 2016).

Género *Cladosporium*

El género *Cladosporium* se ha identificado en varias regiones bioclimáticas, por su predominio en el aire y su capacidad de crecer sobre diversos sustratos (Borrego, 2012; Segers et al., 2015, 2017). Generalmente pueden formar cadenas ramificadas y con gran número de conidios, que se diseminan fácilmente a través del aire por largas distancias. Dentro de este género se encuentran especies patógenas oportunistas, alergénicas, saprobias, invasores secundarios de plantas y endófitos (Vieira et al 2001; Zalar et al., 2007; Hamayun et al., 2009; Bensch, 2012; Kadaifciler & Demirel, 2018).

Cladosporium es un fitopatógeno generalmente foliar, que puede ocasionar daños a cultivos de interés económico (Tendal & Madsen, 2011; Temperini et al., 2018). Se considera como invasor secundario debido a que las especies saprobias aparecen en los órganos de plantas herbáceas y leñosas. Algunas especies pueden ser endófitas y al ocurrir desórdenes nutricionales o estrés hídrico en las plantas, se convierten en patógenos (Hamayun et al., 2009; Zhang et al., 2011). Entre las enfermedades más comunes provocadas por este género se encuentran las costras, la cladosporiosis, las manchas marrones y el punto negro que produce la acumulación de micotoxinas y deviene en la reducción del rendimiento de los cultivos (Kryczyński & Weber, 2011).

Algunas especies de *Cladosporium* son consideras patógenos oportunistas, ya que pueden causar enfermedades cuando ocurre una disminución en los mecanismos de defensa de sus hospederos (Rudert & Portnoy, 2017).

Varios estudios señalan a *C. cladosporioides*, *C. oxysporum* y *C. sphaerospermum* como los agentes causales de feohifomicosis, onicomicosis y queratitis debido al amplio rango de factores de virulencia que presentan. Además, *C. fulvum*, *C. sphaerospermum*, *C. cladosporioides*, *C. cucumerinum*, *C. carpophilum* y *C. caryigenum* presentan múltiples enzimas que participan en los daños a cultivos de interés económico (Agrios, 2005; Zhang et al., 2009; Encina y Piontelli, 2009; Griffiths et al., 2018).

Características taxonómicas del género *Cladosporium*

En la actualidad, este género se encuentra ubicado en la familia Davidiellaceae, orden Capnodiales, clase Dothideomycetes, división Ascomycota (Bensch et al., 2012; Crous et al., 2006, 2007a).

Este hongo presenta conidiogénesis holoblástica y un rápido crecimiento in vitro en medio ricos en nutrientes como agar extracto de malta, agar papa dextrosa y agar Sabouraud (Crous et al., 2007; Borrego, 2012).

Las especies que lo comprenden producen colonias efusas, de color verde olivo, gris, café o marrón oscuro en el anverso, de textura aterciopelada, flocosa o vellosa y con micelio inmerso o superficial. Los conidióforos son macronematosos o semimacronematosos y en ocasiones micronematosos. Los conidióforos macronematosos pueden ser rectos o flexuosos, principalmente sin ramificar o con ramificaciones restringidas a la región apical formando un estípite y cabeza, de color café o café oliva; con pared lisa o verrucosa. Los ramoconidios presentan células conidiógenas poliblásticas, simpodiales, más o menos cilíndricas, con cicatrices usualmente prominentes. Los conidios son producidos en cadenas acrópetas o solitarios. Estas cadenas son ramificadas, cilíndricas, elipsoidales, fusiformes, ovoides, esféricas o subesféricas. Estos conidios pueden ser lisos, verruculosos o equinulados, con una distinguible y protuberante cicatriz en cada extremo o justo en la base, con 0-3 septos y ocasionalmente más (Ho et al., 1999; Bensch et al., 2012).

Descripción de *Cladosporium cladosporioides*

REINO: Fungi

DIVISION: Ascomycota

CLASE: Dothideomycetes

ORDEN: Capnodiales

FAMILIA: Dividiellaceae

GÉNERO: *Cladosporium*

ESPECIE: *cladosporioides*

Características morfológicas

Colonias de crecimiento moderadamente rápido (25-35 mm, OA, 25 °C, 7 días), aterciopeladas volviéndose pulverulentas, de color verde oliva a verde clara. Conidióforos de hasta 250 µm de longitud, ramificados especialmente hacia el ápice, con nódulos a lo largo del conidióforo que coinciden con los locus formadores de conidios. Conidios en cadenas acrópetas y ramificadas, pardos, generalmente verrugosos, unicelulares, elipsoidales o subcilíndricos, de 5-11 x 4-5 µm, con cicatrices prominentes y más oscuras que el resto del conidio, pueden nacer de células soporte de mayor tamaño con uno o más septos transversales, de hasta 14 x 6 µm, que se separan del conidióforo con mucha facilidad

(Yamashiro, 1991).

El crecimiento, esporulación y dispersión de *Cladosporium* spp., es altamente sensible a los cambios en las condiciones climáticas. Se ha demostrado que varios factores ambientales favorecen la esporulación, entre ellos altas temperaturas, alta humedad relativa y lluvia antes de la diseminación de las esporas. La lluvia diaria en conjunto con temperaturas medias diarias de más de 15 ºC, pueden provocar un incremento en la humedad relativa (alrededor del 80%), contribuyendo significativamente al aumento en la producción de esporas (Rondon, 1995).

Descripción de *Tectona grandis* L.

REINO: Plantae

DIVISION: Magnoliophyta

CLASE: Magnoliopsida

ORDEN: Lamiales

FAMILIA: Lamiaceae

GÉNERO: *Tectona*

ESPECIE: *T. grandis* L.

Tectona grandis es un árbol caducifolio de gran tamaño con una copa redondeada. Las hojas son elípticas u aovadas, de longitud de 30 a 60 cm. Crece en bosques frondosos húmedos y secos por debajo, con precipitaciones anuales entre 1250 y 3750 mm y una temperatura mínima de 13 a 17 ºC y máxima de 39 a 43 ºC (Blanco-Florez *et al*., 2014).