UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA TIERRA

CARRERA DE AGROPECUARIA

TEMA:

Evaluación microbiológica de extractos de hojas de *Tectona grandis* L. (teca) con fines fitosanitarios.

AUTOR:

Chun Moreira Young Pil

DOCENTE - TUTOR:

Dr. Luis Ramón Bravo Sánchez, PhD

Puyo - Pastaza - Ecuador
2023

UEA
UNIVERSIDAD
ESTATAL AMAZÓNICA

FORMATO 4
APROBACIÓN DE LOS TRABAJOS DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

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 la idea principal del escrito. Genera expectativas de lectura que se cumplen.	5.0 / 5	Es apropiado
2. RESUMEN		
Entrega información necesaria que oriente al lector a identificar de que se trata la investigación y su relevancia. Incorpora los objetivos, metodología, principales harrazgos y conclusiones.	5.0 / 5	Está bien
3. INTRODUCCIÓN		
Entrega información sobre temática a tratar. Describe la relevancia del tema dentro de las temáticas de investigación, vinculación y docencia. Presentación del problema y objetivos del problema del artículo de manera clara y concisa.	20.0 / 20	Cumple con la descripción inicial del argumento
4. MARCO TEÓRICO		
Marco teórico coherente y articulado con los objetivos. Entrega conceptos de términos que son empleados en el estudio. Sustenta el referente conceptual con adecuadas fuentes de autoridad.	10.0 / 15	Está escueto
5. METODOLOGÍA		
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 que se abordo la información.	15.0 / 15	Cumple con los argumentos para el desarrollo de la metodología

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 estan claramente representados. El texto no repite infromación entregada en los cuadros y figuras.	24.0 / 25	El trabajo está muy bien estructurado, sin embargo, descuida algunas consideraciones de forma, en el ancho de las tablas, espaciamientos de las unidades junto al número, etc.
7. CONCLUSIONES		
Las conclusiones deben ser claras y precisas, acorde a los objetivos trazados. Discute, reflexiona sobre los resultados obtenidos.	10.0 / 10	Están bien
8. REFERENCIAS		
Atiende las normas APA en las citas, fuentes y referencias. Las referencias bibliográficas tienen la fuente en el texto y viceversa.	5.0 / 5	Se han solventado las sugerencias
VALORACIÓN TOTAL	94	NOVENTA Y CUATRO

DICTAMEN

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

Recomendación	Marque con X
Aprobar	X
No Aprobar	
CALIFICACIÓN	94

Atentamente,

Firmado electrónicamente por:
SANDRA LUISA

SANDRA LUISA SORIA RE (PAR CIEGO)

Dado en la ciudad de PUYO, a los 09 días del mes de SEPTIEMBRE de 2023

UEA
UNIVERSIDAD
ESTATAL AMAZÓNICA

FORMATO 4
APROBACIÓN DE LOS TRABAJOS DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

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 la idea principal del escrito. Genera expectativas de lectura que se cumplen.	5.0 / 5	Cumple
2. RESUMEN		
Entrega información necesaria que oriente al lector a identificar de que se trata la investigación y su relevancia. Incorpora los objetivos, metodología, principales harrazgos y conclusiones.	5.0 / 5	Cumple
3. INTRODUCCIÓN		
Entrega información sobre temática a tratar. Describe la relevancia del tema dentro de las temáticas de investigación, vinculación y docencia. Presentación del problema y objetivos del problema del artículo de manera clara y concisa.	13.0 / 20	El autor desestimó las observaciones objetivas del revisor respecto al objetivo general, los específicos y la hipótesis. La introducción fue escasamente mejorada.
4. MARCO TEÓRICO		
Marco teórico coherente y articulado con los objetivos. Entrega conceptos de términos que son empleados en el estudio. Sustenta el referente conceptual con adecuadas fuentes de autoridad.	10.0 / 15	Persisten errores que se plasmaron en el manuscrito por el revisor y que el autor desestima.
5. METODOLOGÍA		
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 que se abordo la información.	10.0 / 15	Modificaron la estructura de la sección de metodología y han restado calidad al trabajo. Se remite al formato 4 remitido por la plataforma OJS porque en el siad el número de caracteres es muy limitado y no puedo escribirlo.

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 estan claramente representados. El texto no repite infromación entregada en los cuadros y figuras.	20.0 / 25	Persisten errores de redacción y de uso de los signos de puntuación.
7. CONCLUSIONES		
Las conclusiones deben ser claras y precisas, acorde a los objetivos trazados. Discute, reflexiona sobre los resultados obtenidos.	10.0 / 10	Cumple
8. REFERENCIAS		
Atiende las normas APA en las citas, fuentes y referencias. Las referencias bibliográficas tienen la fuente en el texto y viceversa.	5.0 / 5	Cumple
VALORACIÓN TOTAL	78	SETENTA Y OCHO

DICTAMEN

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

Recomendación	Marque con X
Aprobar	X
No Aprobar	
CALIFICACIÓN	78

Atentamente,

AIXA OFELIA RIVERO GUERRA

Firmado digitalmente por AIXA OFELIA RIVERO GUERRA
Fecha: 2023.09.08 19:48:34 -05'00'

AIXA OFELIA RIVERO GUERRA (PAR CIEGO)

Dado en la ciudad de PUYO, a los 08 días del mes de SEPTIEMBRE de 2023

Ouriginal by Turnitin

Firmado electrónicamente por:
LUIS RAMON BRAVO

Document Information

Analyzed document	Evaluación microbiológica de extractos de hojas de Tectona grandis L. (teca) con fines fitosanitarios Urkund.docx (D173344674)
Submitted	9/1/2023 10:22:00 PM
Submitted by	
Submitter email	lbravo@uea.edu.ec
Similarity	2%
Analysis address	lbravo.uea@analysis.urkund.com

Sources included in the report

SA **TESIS Zuñiga. I- Yagual D.docx**
Document TESIS Zuñiga. I- Yagual D.docx (D131740568) 4

SA **EXÁMEN PARCIAL_SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN.pdf**
Document EXÁMEN PARCIAL_SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN.pdf (D142414578) 1

Entire Document

Evaluación microbiológica de extractos de hojas de Tectona grandis L. (teca) con fines fitosanitarios
Universidad Estatal Amazónica, Facultad de Ciencias de la Tierra, Carrera de Ingeniería Agropecuaria (1)
Resumen
Se realizó la evaluación del efecto inhibitorio de dos extractos a partir de hojas de Tectona grandis L., (teca) sobre el hongo Aspergillus oryzae (Ahlburg) Cohen, para lo cual se sometió el material foliar seco y pulverizado a extracción asistida por ultrasonidos en agua y etanol al 70% para posteriormente llevar a extracto seco mediante una operación de liofilización. A partir de los liofilizados se prepararon concentraciones ascendentes y se probaron frente al hongo Aspergillus oryzae aplicando la técnica de medio de cultivo envenenado en cajas Petri. Después de la evaluación de la actividad biológica in vitro se demostró que tanto el extracto acuoso como el etanólico a partir de hojas de T. grandis, ejercieron un efecto de inhibición del crecimiento del hongo Aspergillus oryzae, el cual fue dosis dependiente, observándose un control ligeramente mayor para el extracto alcohólico. Los resultados se procesaron estadísticamente a través de software Design Expert y ambos modelos matemáticos de relación entre la concentración del extracto y el porcentaje de inhibición fueron lineales con un adecuado ajuste. Este trabajo constituye un precedente importante para la futura aplicación de los extractos de hojas de teca con fines fitosanitarios para una agricultura ecológica y sostenible.
Palabras Clave: fungicida agrícola, agricultura sostenible, producto fitosanitario, hongo fitopatógeno, teca.

Evaluación microbiológica de extractos de hojas de *Tectona grandis* L. (teca) con fines fitosanitarios

Young Pil Chun Moreira[1]
chunm@uea.edu.ec

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

Universidad Estatal Amazónica, Facultad de Ciencias de la Tierra, Carrera de Ingeniería Agropecuaria (1)

Resumen

Se realizó la evaluación del efecto inhibitorio de dos extractos a partir de hojas de *Tectona grandis* L., (teca) sobre el hongo *Aspergillus oryzae* (Ahlburg) Cohen, para lo cual se sometió el material foliar seco y pulverizado a extracción asistida por ultrasonidos en agua y etanol al 70% para posteriormente llevar a extracto seco mediante una operación de liofilización. A partir de los liofilizados se prepararon concentraciones ascendentes y se probaron frente al hongo *Aspergillus oryzae* aplicando la técnica de medio de cultivo envenenado en cajas Petri. Después de la evaluación de la actividad biológica *in vitro* se demostró que tanto el extracto acuoso como el etanólico a partir de hojas de *T. grandis*, ejercieron un efecto de inhibición del crecimiento del hongo *Aspergillus oryzae*, el cual fue dosis dependiente, observándose un control ligeramente mayor para el extracto alcohólico. Los resultados se procesaron estadísticamente a través de *software Design Expert* y ambos modelos matemáticos de relación entre la concentración del extracto y el porcentaje de inhibición fueron lineales con un adecuado ajuste. Este trabajo constituye un precedente importante para la futura aplicación de los extractos de hojas de teca con fines fitosanitarios para una agricultura ecológica y sostenible.

Palabras Clave*:* fungicida agrícola, agricultura sostenible, producto fitosanitario, hongo fitopatógeno, teca.

Abstract

The evaluation of the inhibitory effect of two extracts from the leaves of *Tectona grandis* L., (teak) on the fungus *Aspergillus oryzae* (Ahlburg) Cohen was carried out, for which the dried and pulverized leaf material was subjected to ultrasound-assisted extraction in water and ethanol at 70% to later lead to dry extract through a freeze-drying operation. Ascending concentrations were prepared from the freeze-dried samples and tested against the *Aspergillus oryzae* fungus using the poisoned culture medium technique in Petri dishes. After evaluating the *in vitro* biological activity, it was shown that both the aqueous and ethanolic extracts from *Tectona grandis* L. leaves exerted an inhibition effect on the growth of the *Aspergillus oryzae* fungus, which was dose-dependent, observing a slightly higher control for the alcoholic extract. The results were statistically processed through the *Design Expert software* and both mathematical models of the relationship between the concentration of the extract and the percentage of inhibition were linear with an adequate fit. This work constitutes an important precedent for the future application of teak leaf extracts for phytosanitary purposes for ecological and sustainable agriculture.

***Keywords**:* agricultural fungicide, sustainable agriculture, phytosanitary product, phytopathogenic fungus, teak

1. INTRODUCCIÓN

La teca (*Tectona grandis* L.) perteneciente a la familia de las Lamiáceas, es una de las especies forestales más valiosas en el mundo con predominante distribución en países tropicales o subtropicales (Seon *et al.,* 2009). Su origen proviene del sudeste de Asia (Tailandia, República Democrática Popular de Laos y la India) y por lo general estos árboles se han aclimatado en la isla de Java en Indonesia, el cual se estima que fueron introducidas hace 400 y 600 años aproximadamente. Su crecimiento se da en climas tropicales húmedos y cálidos, denominado también como clima monzónico (Flórez *et al.,* 2014). Es la más plantada en el planeta con alrededor del 74% del total de las plantaciones en el planeta. Su importancia se debe a la durabilidad de su madera y resistencia a termitas y hongos, debido a que posee compuestos bioactivos como la tectoquina, lapachol, desoxilapachol y también como las antraquinonas, naftoquinonas y quinonas isoprenoides el cual ejercen efectos toxicológicos o farmacológicos contra otros organismos. Además de

estos componentes la teca contiene otros fitoquímicos como son los triterpenoides, esteroides, lignanos y compuestos fenólicos (Pooja *et al.*, 2018). La función principal de estos metabolitos es su acción repelente sobre termitas y disuasorio en hongos, además los fitoquímicos actúan como protección contra los macro y microorganismos (Pooja *et al.*, 2018).

La corteza del árbol de teca es utilizada para algunos usos en la medicina popular como el tratamiento del estreñimiento, además de esto es utilizada para la bronquitis, hiperacidez, sensación de ardor, diabetes, lepra y enfermedades de la piel. Las hojas son utilizadas como depurativos, antiinflamatorios y para el tratamiento de hemorragias y úlceras. Por otra parte, los extractos de su madera sirven como sedante y el aceite extraído de la madera es muy utilizado para dolores de cabeza (Khera, 2013). Se ha comprobado que tres extractos crudos de teca han mostrado actividades antifúngicas en contra de algunos patógenos de plantas como *Alternaria cajani* Rak. Kumar., *Fusarium sp.* (Pfenning) O´ Donnell., *Helminthosporium sp*. (Bainier) Nicot., *Bipolaris sp*. (Bainier) Nicot., (Shalini, 2007).

De acuerdo con Khera (2013) a una baja concentración de extractos de hojas de teca con metanol (0,5% w/v) se suprimió significativamente el crecimiento de *Arthrinium Phaeospermum* (Corda) M. B. Ellis., por 81,4% con un mínimo de concentración inhibitoria (MIC) de 0,4% (w/v), dicho extracto inhibió significativamente el crecimiento radial del hongo, su biomasa total y su esporulación.

La agricultura sostenible y ecológica se basa en un conjunto de procesos que buscan tener una relación amigable con el ambiente, sin afectarlo y ejercer el control de plagas de forma natural con el fin de obtener producciones que brinden seguridad alimentaria y económica. Este tipo de producción está enfocada en generar alimentos que se encuentren libres de contaminantes químicos, como los residuos de fungicidas e insecticidas químicos, entre otros (Rivera *et al.*, 2016).

La implementación de nuevas tecnologías como maquinarias, insumos químicos y sobre todo especies más resistentes para lograr una mayor productividad nació con un principal objetivo y fue el de lograr terminar con el hambre y la desnutrición en el planeta, sin embargo, hasta hoy en día no se ha logrado cumplir este ideal, el cual era el principal objetivo desde su aparición (siglo XX), y peor aún esto ha causado que cada vez se haga

uso de recursos sintéticos intensivamente, provocando que los recursos naturales se vean cada vez más amenazados, afectando al ambiente, la salud de los seres humanos y animales (Gliessman, 2002). Sería recomendable entonces lograr desarrollar nuevos productos de origen natural para el control de plagas y enfermedades en la agricultura, que permitan reemplazar los agroquímicos que impactan negativamente al ambiente.

El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de los extractos crudos secos liofilizados a partir de las hojas de teca con dos tipos de disolventes: agua y etanol, frente al hongo *Apergillus oryzae*, con vistas a su uso como fungicida agrícola natural y totalmente orgánico.

2. MATERIALES Y MÉTODOS/METODOLOGÍA

2.1 Procedimiento

2.1.1 Recolección de hojas de teca

La recolección se la realizó en Arenillas, Provincia del Oro. Se recolectaron las hojas jóvenes y que no estuvieran muy expuestas a la radiación solar y se llenó un costal grande de aproximadamente 45 kg, para abarcar mayor cantidad de material foliar.

2.1.2 Lavado, secado y pulverizado del material foliar

Se lavaron las hojas de teca con agua de grifo y enseguida se las enjuagó con agua destilada, después se procedió a pesar las hojas lavadas para posteriormente dejarlas a secar al aire libre, bajo la sombra por un lapso de 2 horas con volteo y regresando 2 horas posteriores. Luego se realizó otro secado en la estufa a 50°C por 24 horas. Posteriormente se pulverizó el material foliar en el Centro Experimental de Investigación y Producción Amazónica (CEIPA). Para la pulverización se utilizó un molino de cuchillas con una malla de aberturas de 0,5 mm a nivel 3 de velocidad.

2.1.3 Extracción y filtración del pulverizado de teca en disolución acuosa y alcohólica

Se añadieron 75 g de sólido pulverulento de hoja de teca en dos balones de capacidad 1 L, se añadieron 500 mL de disolvente (agua destilada o etanol al 70%) en cada balón.

Luego se agitaron los balones y posteriormente se colocaron en baño por ultrasonido (cavitación acústica) a una temperatura de 60°C por 30 minutos de extracción a máxima potencia de ultrasonido (Navarrete *et al.*, 2014).

Para la filtración se utilizó papel filtro con membrana miliporo (poro = 0,2 μm) un embudo de vidrio, papel aluminio y un frasco de vidrio con tapa. Se colocó poco a poco el extracto en la boca del embudo de vidrio con papel filtro para ser filtrado y separar las partículas suspendidas de las disoluciones. Una vez filtrado todo se llenó el frasco de vidrio y se lo envolvió con papel aluminio para evitar alguna reacción por entrada de luz solar.

2.1.4 Determinación de sólidos disueltos totales

Para el análisis de sólidos disueltos totales (SDT) se utilizaron tres cápsulas de porcelana por cada disolución, así como estufa, desecadora, balanza analítica, guantes resistentes al calor y baño de María. Se lavaron las cápsulas de porcelana con agua de grifo y después con agua destilada para posteriormente secarlas en la estufa por 10 minutos. Una vez secas, se pesaron las tres cápsulas vacías y se registraron correctamente sus pesos.

Posteriormente se midieron 5 mL de los extractos, se colocaron en cada cápsula de porcelana y se las llevó a baño María por una hora, luego se las colocó en la estufa por tres horas a 105°C. Una vez pasadas las tres horas se sacaron las cápsulas de porcelana y se las enfrió en las desecadora por 15 minutos, para posteriormente volverlas a pesar y colocarlas nuevamente en la estufa por 1 hora a 105°C, hasta peso constante. Los cálculos de SDT se realizaron según la ecuación 1 y los resultados se observan en la tabla 1.

Ecuación 1. **Fórmula para el cálculo de sólidos disueltos totales (SDT).**

*SDT= (A-B) / Vol (mL) * 1000*

Donde: A peso del residuo seco más crisol en mg

B peso del crisol en mg

Fuente: Adaptado de (Jácome, 2014)

Tabla 1. Valores obtenidos del análisis de SDT.

Disolución acuosa	Total
Cápsula 1	28%
Cápsula 2	30%

Cápsula 3	30%
Disolución alcohólica	**Total**
Cápsula 1	20%
Cápsula 2	20%
Cápsula 3	20%

2.1.5 Liofilización de extractos

Se colocaron los extractos de hoja de teca en el liofilizador, por 4 días, 15 horas y 42 minutos. Este proceso permitió separar el agua de los sólidos mediante congelación y posterior a esto un proceso de sublimación del hielo por medio de presión reducida para obtener los extractos en forma de polvo seco (Ramírez, 2006).

2.1.6 Preparación de concentraciones, siembra y caracterización

Para el medio envenenado se prepararon 13 concentraciones para el extracto alcohólico y otras 13 concentraciones para el acuoso. Con la ayuda de una espátula de laboratorio se colocó el material liofilizado proveniente de los extractos acuoso y alcohólico en frascos de vidrio y se pesó en balanza analítica la cantidad necesaria de sólido para preparar cada concentración y luego se añadió 75 mL de agua purificada. Posteriormente se agitó cada frasco de vidrio con su respectiva concentración (Tabla 2). Para el control negativo de cada extracto (acuoso y alcohólico) se añadió 1,95g de agar nutritivo (PDA). Una vez listas las concentraciones se calentaron en la plancha de calentamiento, con agitación constante hasta llegar a punto de inicio de la ebullición.

Posteriormente se esterilizaron mediante autoclave los frascos de vidrio con las concentraciones, así como las cajas Petri con capacidad de 25 mL y los materiales para la siembra del hongo. Luego de la esterilización, se empleó el medio envenenado en cada caja Petri con capacidad de 25mL. Posteriormente se sembró el hongo *Aspergillus oryzae* en cada caja Petri con el medio envenenado, esto se realizó caja por caja. La siembra se ejecutó en una cámara de flujo laminar vertical para evitar algún tipo de contaminación. Una vez realizada la siembra se sometieron los hongos a incubación por un lapso de 5 a 6 días. Para la incubación, las cajas Petri que contenían el hongo estaban selladas a su alrededor con Parafilm. Luego del tiempo establecido de incubación se realizó la caracterización respectiva, midiendo con una regla el crecimiento radial del hongo,

comparando la cantidad de concentración con el crecimiento en cm del hongo (tabla 3).

Tabla 2. Concentraciones de extracto acuoso y alcohólico.

EXTRACTO ALCOHÓLICO	Concentración mg/mL	Concentración g/mL
Concentración 1	8,70	0,0087
Concentración 2	8,70	0,0087
Concentración 3	9,50	0,0095
Concentración 4	10,3	0,0103
Concentración 5	11,1	0,0111
Concentración 6	12.,0	0,0120
Concentración 7	12,0	0,0120
Concentración 8	12,0	0,0120
Concentración 9	13,0	0,0130
Concentración 10	14,1	0,0141
Concentración 11	15,3	0,0153
Concentración 12	15,3	0,0153
Concentración 13	15,3	0,0153
C/N	PDA	1,9600
EXTRACTO ACUOSO	**Concentración mg/mL**	**Concentración g/mL**
Concentración 1	8,70	0,0087
Concentración 2	8,70	0,0087
Concentración 3	9,50	0,0095
Concentración 4	10,3	0,0103
Concentración 5	11,1	0,0111
Concentración 6	12,0	0,0120
Concentración 7	12,0	0,0120
Concentración 8	12,0	0,0120
Concentración 9	13,0	0,0130
Concentración 10	14,1	0,0141
Concentración 11	15,3	0,0153
Concentración 12	15,3	0,0153
Concentración 13	15,3	0,0153
C/N	PDA	1,9600

2.2 Área de estudio

El estudio se realizó en las instalaciones de la Universidad Estatal Amazónica, Provincia de Pastaza con un clima tropical y temperatura promedio de 20°C y una altitud de 600 m.s.n.m, para el cual se hizo uso del material foliar de teca provenientes de la provincia de El Oro.

2.3 Métodos de investigación

La investigación fue del tipo exploratoria para la cual se llevó a cabo una búsqueda detallada y minuciosa de información, en fuentes como: Scielo, Scopus, Springer, Latindex. Todo esto se realizó con la finalidad de cumplir con el objetivo presente trabajo de investigación, realizando una lectura crítica de cada uno de los documentos obtenidos a partir de las fuentes ya mencionadas.

2.4 Tipo de investigación

La presente investigación fue de tipo aplicada y fundamentada en la experimentación y en la revisión bibliográfica, en donde se realizó el montaje de un experimento para la evaluación microbiológica de extractos de *Tectona grandis* L., sobre el hongo *Aspergillus oryzae*. La fuente de recopilación de estudios se encontraba en idioma inglés y español. Las fuentes primarias correspondían a revistas científicas, libros, artículos científicos, estudios de caso e investigaciones. Los temas que se escogieron fueron con relación a la caracterización fitoquímica y microbiológica de extractos de *Tectona grandis* L. con fines fitosanitarios.

2.5 Descriptores de búsqueda

Se utilizaron las palabras claves: fungicida agrícola, agricultura, ecología, ambiente, orgánico, fitosanitario, fitopatógeno.

2.6 Criterios de inclusión

Se separaron los documentos consultados (documentos con validez científica y con información sobre el tema a investigar), esto haciéndolo a partir el uso de palabras clave, para mejorar la eficiencia de búsqueda y selección de los temas de investigación. El año de publicación fue seleccionad a partir de estudios dentro de los últimos 20 años (2003 – 2023). Las palabras clave se utilizaron de manera combinada, con el objetivo de tener una

mejor búsqueda de información.

2.7 Equipos, materiales, utensilios, reactivos e instrumentos

- Molino de cuchillas. Malla 0.5
- Autoclave
- Espátulas de laboratorio
- Frascos de vidrio
- Cámara de flujo laminar vertical
- Papel filtro con membrana miliporo (poro = 0,2 μm)
- Agua destilada
- Medio de cultivo
- Cepas de hongo: *Aspergillus oryzae* - MEDIBAC
- Balanza técnica
- **Viales de plástico Eppendorf 1mL**
- Micropipeta
- Estufa
- Cristalería y material volumétrico (vaso de precipitación, cajas Petri, vidrio de reloj, balón de vidrio, probeta, pipeta, frascos de vidrio, matraces).
- Material foliar de *Tectona grandis* L.
- Plancha de calentamiento.
- Baño ultrasónico.
- Baño María
- Balanza analítica

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una vez medidos los diámetros de inhibición correspondientes a las diferentes concentraciones ensayadas tanto para el extracto alcohólico como el acuoso, se procedió a calcular el porcentaje de inhibición sobre la base del control negativo, o sea el hongo *Aspergillus oryzae* en medio de cultivo nutritivo; los resultados de las mediciones y los porcentajes de inhibición en dependencia de la concentración se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Porcentaje de inhibición del hongo *Aspergillus oryzae* por el extracto acuoso y alcohólico de teca.

Extracto alcohólico	Concentración mg/mL	Diámetro Cm	Porcentaje de inhibición %
Concentración 1	8,70	5,70	28,78
Concentración 2	8,70	5,58	30,30

Concentración 3	9,50	5,54	30,76
Concentración 4	10,3	5,48	31,50
Concentración 5	11,1	5,42	32,25
Concentración 6	12,0	5,37	32,87
Concentración 7	12,0	5,42	32,25
Concentración 8	12,0	5,40	32,50
Concentración 9	13,0	5,30	33,75
Concentración 10	14,1	5,20	35,00
Concentración 11	15,3	5,00	37,50
Concentración 12	15,3	5,16	35,50
Concentración 13	15,3	5,10	36,25
C/N	PDA	8,00	0%

Extracto acuoso	**Concentración mg/mL**	**Diámetro Cm**	**Porcentaje de inhibición %**
Concentración 1	8,70	6,20	23,92
Concentración 2	8,70	6,30	22,70
Concentración 3	9,50	6,00	26,38
Concentración 4	10,3	5,90	27,61
Concentración 5	11,1	5,89	27,70
Concentración 6	12,0	5,85	28,22
Concentración 7	12,0	5,70	30,06
Concentración 8	12,0	5,88	27,88
Concentración 9	13,0	5,60	31,28
Concentración 10	14,1	5,50	32,51
Concentración 11	15,3	5,10	37,42
Concentración 12	15,3	5,30	34,96
Concentración 13	15,3	5,20	36,19
C/N	PDA	8,15	0%

Comenzando por el extracto acuoso, se analizó la correlación entre las variables concentración y porcentaje de inhibición utilizando el software *Design Expert* y este sugirió que el modelo matemático se correspondía en mayor medida con una función lineal, que es la curva de regresión representada y mediante la cual es posible predecir el comportamiento matemático entre la variable dependiente y la independiente; en la tabla 4 se puede apreciar la comparación con las funciones cuadrática, cúbica, cuártica, quíntica,

séxtica.

Tabla 4. Correlación entre variables concentración e inhibición

Modelo	Prob. p	Prob. p para falta de ajuste	R^2 ajustado	R^2 predicho	
Lineal	**< 0,0001**	**0,5325**	**0,9383**	**0,9201**	**Sugerido**
Cuadrático	0,2552	0,5589	0,9408	0,9125	
Cúbico	0,0917	0,7865	0,9529	0,9279	
Cuártico	0,3813	0,7917	0,9521	0,9106	
Quíntico	0,3846	0,8297	0,9513	0,8954	
Séxtico	0,5219	0,9645	0,9472	0.9340	

En la tabla 5 se observan los resultados del análisis de varianza (ANOVA) para un modelo matemático de comportamiento lineal.

Tabla 5. Resultados de análisis de varianza para el efecto del extracto acuoso

	Suma cuadrados	Grados libertad	Cuadrado medio	Valor F	Prob. p	
Modelo	233,20	1	**233,20**	**183,62**	< 0,0001	**significativo**
Residuales	13,97	11	1,27			
Falta ajuste	7,45	6	1,24	0,9519	0,5325	**no significativo**
Error puro	6,52	5	1,30			
Correlac. Total	247,17	12				

El modelo lineal es significativo, porque los valores de probabilidad (p) son inferiores a 0,0500, para un 95% de confianza. La falta de ajuste no es significativa, por lo que el modelo lineal de comportamiento del porcentaje de inhibición frente a la concentración del extracto acuoso de teca es adecuado. La información ofrecida en la tabla 6 corrobora lo mencionado con anterioridad, ya que la diferencia entre el coeficiente de determinación ajustado y predicho es inferior a 0,2.

Tabla 6. Parámetros de ajuste del modelo lineal.

Desv. Est.	1,13	**R^2**	0,9435
Media	29,76	**R^2 Ajustado**	0,9383
C.V %	3,79	**R^2 Predicho**	0,9201
		Precisión Adecuada	27,3219

La ecuación final del modelo matemático es la correspondiente a una línea recta, como

se puede observar en la Ecuación 2.

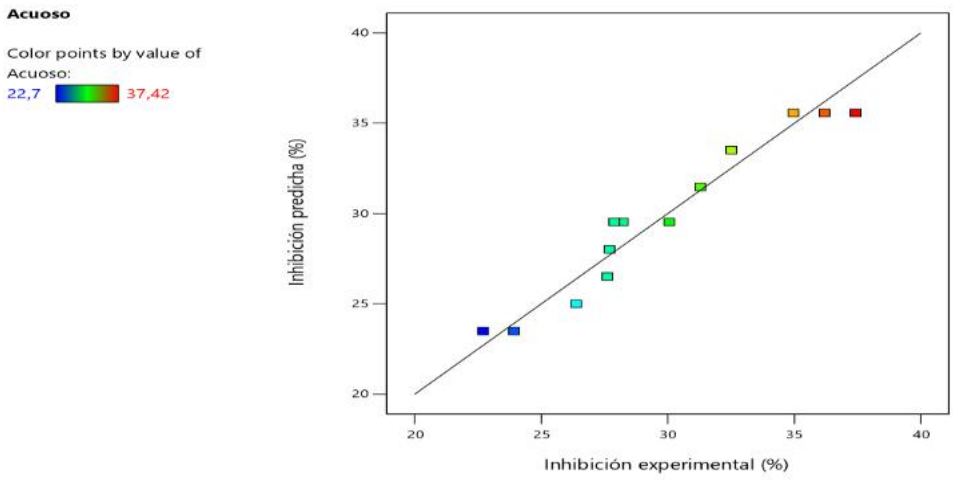
Ecuación 2. Modelo matemático de comportamiento lineal del porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo *Aspergillus oryzae* vs. concentración de extracto acuoso de teca

% Inhibición = 1,82987 * Concentración + 7,57480

La figura 1 muestra la correlación lineal entre el porcentaje de inhibición experimental y el predicho. Este fenómeno muestra que sí existe un efecto inhibitorio significativo por parte de los componentes naturales del extracto acuoso de teca desde un valor teórico mínimo de 22,7% y un máximo de 37,42% (Figura 1). En ese intervalo el extracto acuoso de hojas de teca suprimió significativamente el crecimiento de esporas y biomasa de *Aspergillus oryzae*. La prueba de efecto antifúngico muestra que *T. grandis* L. induce efectos inhibitorios en distintas concentraciones sobre el mismo tipo de hongo inhibiendo el crecimiento micelial. Según Ruiz., et al (2012) las condiciones ambientales en las que esta especie arbórea se encuentre van a influir positiva o negativamente en el comportamiento inhibitorio observado y la influencia que tiene el extracto, sea alta o de baja incidencia también depende en gran manera del tipo de hongo al que se aplica el biocontrolador, es decir un tipo de hongo puede ser más resistente que otro.

Figura 1.

Evaluación del efecto inhibitorio en extracto acuoso.

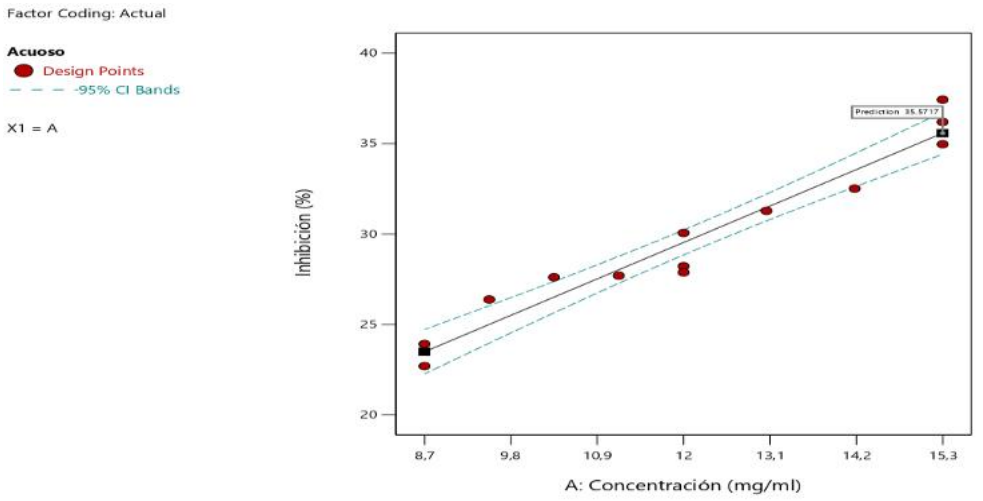


El efecto del extracto acuoso sobre la inhibición del crecimiento radial del hongo fue

lineal (Figura 2). Según Quispe *et al.,* (2010) a mayor concentración de extracto de hoja de teca, mayor es la actividad inhibitoria, por lo que los resultados obtenidos muestran que el proceso inhibitorio es dosis dependiente. Según el modelo de predicción lineal, la mayor inhibición alcanzable puede ser hasta de 35,57 % a una concentración de 15, 3 mg/mL.

Figura 2.

Efecto inhibitorio en función de la concentración del extracto acuoso de teca.



A continuación, se realiza un análisis similar para el extracto hidroalcohólico. En la tabla 7 se observan los resultados del análisis de varianza para un modelo matemático de comportamiento lineal.

Tabla 7. Resultados de análisis de varianza para el efecto del extracto alcohólico

	Suma cuadrados	Grados libertad	Cuadrado medio	Valor F	Probab. p	
Modelo	71,21	1	**71,21**	**187,70**	< 0,0001	**significativo**
Residuales	4,17	11	0,3794			
Falta de ajuste	0,7816	6	0,1303	0,1921	0,9656	**no significativo**
Error puro	3,39	5	0,6783			
Correlac. Total	75,38	12				

El valor de F = 187,70 en este caso el modelo lineal indica que también es significativo, así como los valores de probabilidad (p) inferiores a 0,0500, La falta de ajuste F = 0,1921, p = 0,9656 no es significativa. El comportamiento del modelo lineal del porcentaje de inhibición frente a la concentración del extracto hidroalcohólico de teca es adecuado.

En la tabla 8 se observa que el modelo matemático predictivo sugerido por el software es también el lineal.

Tabla 8. Correlación entre variables concentración y porcentaje de inhibición

Modelo	Probabilidad p	Probabilidad p para falta de ajuste	R^2 ajustado	R^2 predicho	
Lineal	**< 0,0001**	**0,9656**	**0,9396**	**0,9118**	**Modelo sugerido**
Cuadrático	0,4535	0,9672	0,9374	0,8878	
Cúbico	0,4037	0,9830	0,9359	0,8786	
Cuártico	0,5673	0,9886	0,9309	0,8739	
Quíntico	0,9448	0,9459	0,9211	0,8615	
Séxtico	0,8455	0,7919	0,9086	0,6383	

La información ofrecida en la tabla 9 corrobora lo mencionado con anterioridad, ya que la diferencia entre el coeficiente de determinación ajustado y predicho es inferior a 0,2

Tabla 9. Parámetros de ajuste del modelo lineal.

Desv. Est.	0,61	**R^2**	0,9446
Media	33,02	**R^2 Ajustado**	0,9396
C.V %	1,87	**R^2 Predicho**	0,9118
		Precisión Adecuada	27,6238

La ecuación final del modelo lineal es la siguiente (Ecuación 3):

Ecuación 3. Modelo matemático de comportamiento lineal del porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo *Aspergillus oryzae* vs. Concentración de extracto alcohólico de teca

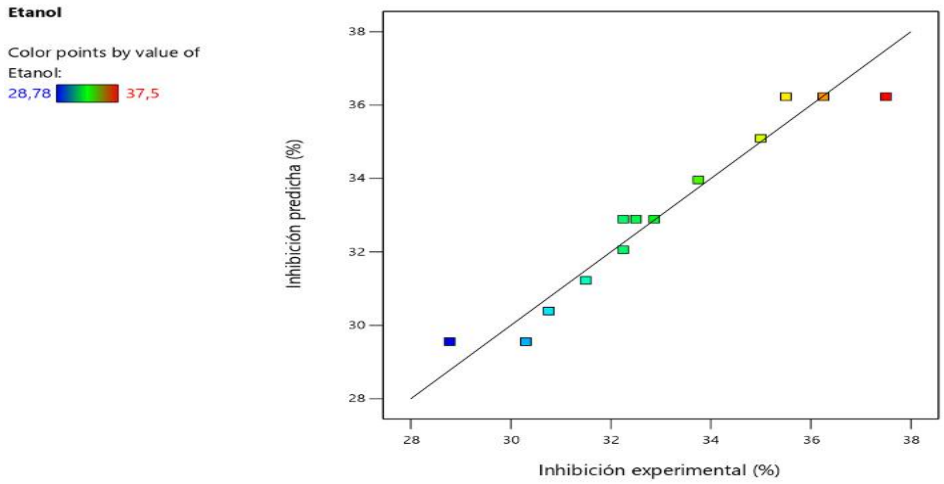
% Inhibición = 20,75914 * Concentración + 1,01115

La figura 3 muestra la correlación entre el porcentaje de inhibición experimental y predicho. Este fenómeno muestra que sí existe un efecto inhibitorio significativo por parte de los componentes naturales del extracto alcohólico de teca desde un valor teórico mínimo de 28,78% y un máximo de 37,5%. En ese intervalo el extracto alcohólico de hojas de teca suprimió significativamente el crecimiento de esporas y biomasa de *Aspergillus oryzae*. Según Monsalve (2020) la polaridad que posee el extracto alcohólico puede favorecer la extracción de compuestos fenólicos y otros metabolitos polares que pueden tener algún

efecto sinérgico constituyendo fitocomplejos activos que inhiban positivamente a los agentes microbianos.

Figura 3.

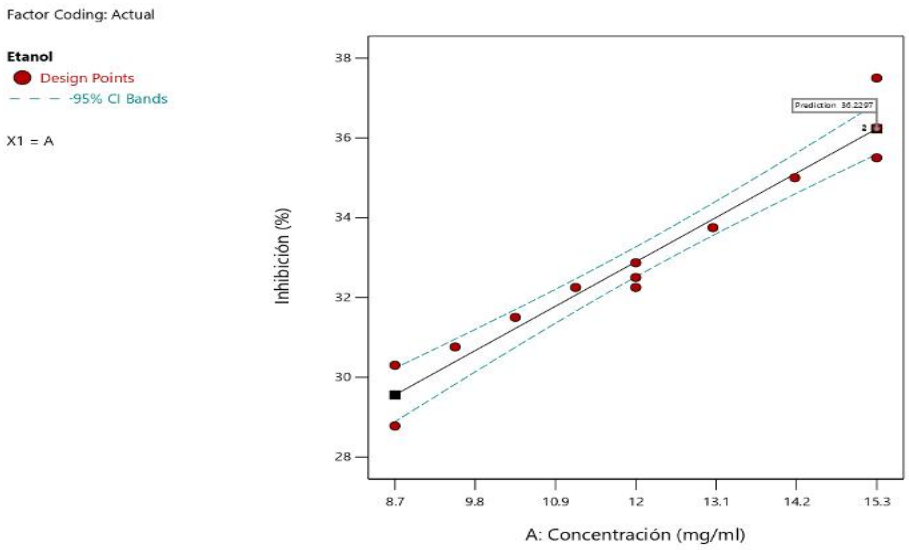
Evaluación del efecto inhibitorio en extracto alcohólico



El efecto del extracto alcohólico sobre la inhibición del crecimiento radial del hongo también fue lineal (Figura 4). Este resultado indica que, al aplicar dosis más elevadas de extracto de teca, el efecto antifúngico sobre el hongo a estudio actúa mejor y aplicando una dosis menor el efecto será menos eficiente (Quispe *et al.*, 2010). La eficiencia del extracto también depende en gran manera del tipo de disolvente y su grado de polaridad (Monsalve, 2020). Según el modelo de predicción lineal, la mayor inhibición alcanzable puede ser hasta de 36,22 % a una concentración de 15,3 mg/mL. El mayor efecto de inhibición se obtuvo para el extracto alcohólico, con eso se puede aseverar que los componentes que tiene el extracto en etanol al 70% tienen un mayor efecto en la inhibición del crecimiento del hongo *Aspergillus oryzae*. Según Lanka (2017) los extractos etanólicos de teca tienen actividad antifúngica eficiente.

Figura 4.

Efecto inhibitorio en función de la concentración del extracto hidroalcohólico de teca.



CONCLUSIONES

Los extractos acuoso y etanólico al 70% a partir de hojas de *Tectona grandis* L., ejercen un efecto de inhibición del crecimiento del hongo *Aspegillus oryzae*, el cual es dosis dependiente, observándose un control ligeramente mayor para el extracto alcohólico. Este trabajo constituye un precedente importante para la futura aplicación de los extractos de hojas de teca con fines fitosanitarios para una agricultura ecológica y sostenible, debido a que los componentes bioactivos que por su naturaleza contiene la teca ayudan a controlar ecológicamente al hongo que por lo general causa daños severos en los frutos y cultivos agrícolas.

REFERENCIAS

Altrieri, M. (2020). El potencial de la agroecología para combatir el hambre en el mundo en desarrollo. En M. Altrieri., P. Rosset y L. Ann (Eds), *Una Visión De la Alimentación, La Agricultura Y El Medio Ambiente* (pp. 202-467). IFPRI. http://www.ifpri.org/spanish/2020/briefs/br55sp.htm

Flórez Jeimy, B., Trugilho Paulo, F., Lima José, T., Gherardi Paulo, R., y Moreira José, R. (2014). *Caracterización de la madera joven de Tectona grandis l. f. plantada en Brasil*, Madera y Bosques, *20* (1), 11-20. https://doi.org/10.21829/myb.2014.201172

García A., Laurín M., Llosá José, M., Gonzálvez V., Sanz José, M y Porcuna José, L. (2008). *Contribución de la agricultura ecológica a la mitigación del cambio climático en comparación con la agricultura convencional*, Agroecología, *1(2006)*, 75-88. https://revistas.um.es/agroecologia/article/view/169

Gliessman Estephen, R. (2002). *Agroecología: procesos ecológicos en agricultura sostenible*, CATIE. https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/9149

Gonzáles Byron, A. (2007). *Caracterización genética con microsatélites de un ensayo de progenie de teca (Tectona grandis Linn. F) en San Mateo de Alajuela* [Tesis de grado, Instituto Tecnológico de Costa Rica]. https://hdl.handle.net/2238/556

Jácome Juan. (2014). *Validación de métodos analíticos para la determinación de la demanda química de oxígeno (rango bajo, rango medio, rango alto), sólidos totales disueltos y sólidos totales suspendidos en matrices de agua clara y residual en el Centro de Investigaciones y Control Ambiental* [Tesis de grado, Universidad Técnica de Ambato]. http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/8461

Khera, N. y Bhargava. S. (2013). *Phytochemical and Pharmacological Evaluation o Tectona grandis. Linn*, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, *5(3)*, 923-927. https://bit.ly/47UXan0

Lanka, S. y Parimala. (2017). *Antimicrobial activities of Tectona grandis leaf and bark extracts*, European Journal of pharmaceutical and medical research, *4(12)*, 25-248. file:///C:/Users/Usuario/Downloads/EJPMRpaper%20(1).pdf

Monsalve Meribary, P., y Bello Adonis, A. (2020). *Evaluación antimicrobiana de extractos obtenidos de los residuos de la corteza de Teca (Tectona grandis l.f)*. UNEMI, *13(32)*, 63-68. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=582661898006

Navarrete M., Vargas A., Esquivel D., Naude, J., Méndez F., Villagrán Muniz, M y Mejía Uriarte, V. (2014). *Rompimiento de la viscosidad en líquidos por cavitación hidrodinámica y acústica* [Congreso]. XXIX Congreso de Instrumentación, Puerto Vallarta, Jalisco, México. http://somi.ccadet.unam.mx/somi29/memoriassomi29/PDFS/Intrumentacion/29-GJSOMI-8-29.pdf

Pooja Vyas., Yadav Dinesh K. y Khandelwal, P. (2018). *Tectona grandis (teak) - A review on its phytochemical and therapeutic potentia*l. Natural Product Research *33*(16), 2338-2354. https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1440217

Quispe Félix, E., Espinosa Ray, R., Puente Mayra, I., Rodríguez Mireya, G y Cupull René, S. (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. https://biblat.unam.mx/hevila/Centroagricola/2010/vol37/no1/10.pdf

Ramírez Juan, S. N. (2006). *Liofilización de alimentos*, ReCiTeIa. file:///C:/Users/Usuario/Downloads/2006Ramrez-Navas-LiofilizacionAlimentos%20(2).pdf

Rivera, M., Becerril Hilario, H y De Los Ríos Ignacio, C. (2016). *La agricultura ecológica*

y su influencia en la prosperidad rural: vision desde una sociedad agrarian (Murcia – España), Agrociencia, *50(3)*, 375-389. https://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v50n3/1405-3195-agro-50-03-375.pdf

Ruíz María, C., Ornelas Jesus, P., Olivas Isela, G., Acosta Horacio, C., Sepúlveda Roberto, D., Pérez Alonso, D., Rios Claudio,V., Salas Ángel, M y Fernández Patricia, S. (2018). *Efecto de Trichoderma spp. Y hongos fitopatógenos sobre el crecimiento vegetal y calidad del fruto de jitomate,* Revista Mexicana de fitopatologia, 36(3), 444-456. https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1804-5

Ruiz Ray, E., Herrera Lidcay, I., Sánchez Luis, B., Hernández Maykel, A., Torres Sinesio, G., Ramos Yordanis, G y Espinosa Manuel, M. (2012). *Efecto sinérgico de taninos y flavonoides presentes en Terminalia catappa L. sobre el crecimiento micelial de Rhizoctonia solani Kuhn y Sclerotium rolfsii Sacc*. Fitosanidad, 16(1), 277-32. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209125190006

Seon Jae, Y., Palanisamy, K y Hedge, M. (2009). *Teak (Tectona grandis Linn. F.): A Renowned Comercial Timber Species*, Journal of Forest Science, *25(1)*, 1-24. file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Teak_Tectona_grandis_Linn_f_A_Renowned_Commercial_%20(1).pdf

Schaaf Alberto, A. (2013). Uso de pesticidas y toxicidad: relevamiento en la zona agrícola de San Vicente, Santa Fe, Argentina, Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 4(2), 323-331.https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007093420130002000012

Trujillo Emilio, P. (2017). *Problemas críticos de la agricultura convencional* [Tesis de grado, Universidad Nacional de Ucayali]. http://repositorio.unu.edu.pe/handle/UNU/3623

ANEXOS

Anexo 1. Fundamentación teórica

Aspectos actuales en la agricultura

La agroecología es la ciencia que ayuda a conservar los recursos naturales por medio de sus principios ecológicos aplicados para diseñar y administrar producciones agrícolas (Altieri *et al.*, 2020). Según Trujillo (2017) desde el aparecimiento de las nuevas tecnologías la agricultura convencional ha tenido mejores resultados productivos en pequeñas extensiones de tierra, sin embargo, este tipo de agricultura tiene su lado oscuro y sobre todo una fuerte paga con el ecosistema natural, causando severos daños al medio ambiente y la perdida de recursos naturales. Actualmente la agricultura convencional requiere del uso de agroquímicos y gastos financieros muy altos, haciendo que el medio biológico natural del planeta se desgaste cada vez más y peor aún la traba que muchos agricultores tienen al no poder financiar los paquetes tecnológicos (Trujillo, 2017).

El calentamiento global es producido por los gases de efecto invernadero (GEIs) y emisiones antrópicas en las explotaciones agropecuarias, el cual los principales gases son metano, dióxido de carbono, óxido nitroso, perfluorocarbonos y azufre, esto debido también al uso excesivo de agroquímicos como fungicidas sintéticos (García *et al.*, 2008).

Existes algunas tecnologías agroecológicas que contribuyen a la mitigación de estos gases de efecto invernadero y que a su vez ayudan a recuperar y conservar los recursos naturales como las tecnologías de emisión cero de GEIs, como los fungicidas orgánicos o productos de origen natural (García *et al.*, 2008).

Origen y descripción de *Tectona grandis* L.

La teca es originaria del sudeste de Asia (Laos y Tailandia). Se originó aproximadamente hace 400 y 600 años atrás (Flórez *et al.*, 2014). Botánicamente se considera un árbol caducifolio y que alcanza un tamaño de aproximadamente 45 metros de altura con un diámetro de 2 metros, perteneciente a la familia *Verbenaceae* (González, 2007).

Usos, propiedades y actividad fitosanitaria

El árbol de teca, además de ser usado como un recurso maderable, su corteza también es utilizada para fines antifúngicos y antimicrobianas, debido a sus propiedades presentes como la tectoquinona, lapachol y desoxilapachol.

Según Lanka (2017), el extracto la hoja de teca y la corteza de tallo de *Tectona grandis*, preparado en disolventes como etanol y agua tiene actividad antifúngica (Tabla 10 y 11).

Tabla 10. Actividad antifúngica de extracto de hoja de *Tectona grandis*

Organismo	Diámetro de la zona de inhibición (mm)	
	Etanol	**Agua**
Aspergillus niger	19	12
Trichoderma. viride	16	10

Fuente: Adaptado de (Lanka, 2017)

Tabla 11. Actividad antifúngica de extracto de corteza de *Tectona grandis*

Organismo	Diámetro de la zona de inhibición (mm)	
	Etanol	**Agua**
Aspergillus niger	20	13
Trichoderma viride	21	12

Fuente: Adaptado de (Lanka, 2017)

Efectos de los hongos fitopatógenos en los cultivos agrícolas

En el mundo de la producción agrícola, existe una diversidad de microorganismos que cumplen un papel específico, sin embargo, existen un cierto grupo que son considerados como fitófagos debido a que causan ciertos daños en las especies vegetales y con eso la disminución de la producción agrícola. Estos danos pueden ser el bloqueo de los haces vasculares de la planta, impidiendo que los nutrientes y el agua sean transportado por todo su organismo, provocando baja producción y la reducción de sus frutos tanto agrícola y botánico (Ruiz *et al.*, 2018).

Uso de pesticidas químicos

Si bien es cierto el uso de nuevas tecnologías como los pesticidas químicos, han mejorado las cantidades de producciones agrícolas y sobre todo el control de fitófagos, también es cierto que el uso ha causado daños al medio ambiente y a la salud de animales e incluso del ser humano que puede causar toxicidad agua o crónica (Schaaf, 2013). Por lo general en las producciones agrícolas el uso de plaguicidas químicos es frecuente para el control de fitopatógenos pero que a su vez traen efectos adversos como el desarrollo de la resistencia de los patógenos, muerte de los microorganismos que son benéficos, contaminación de los suelos y fosas freáticas, entre otras (Ruiz, 2018).

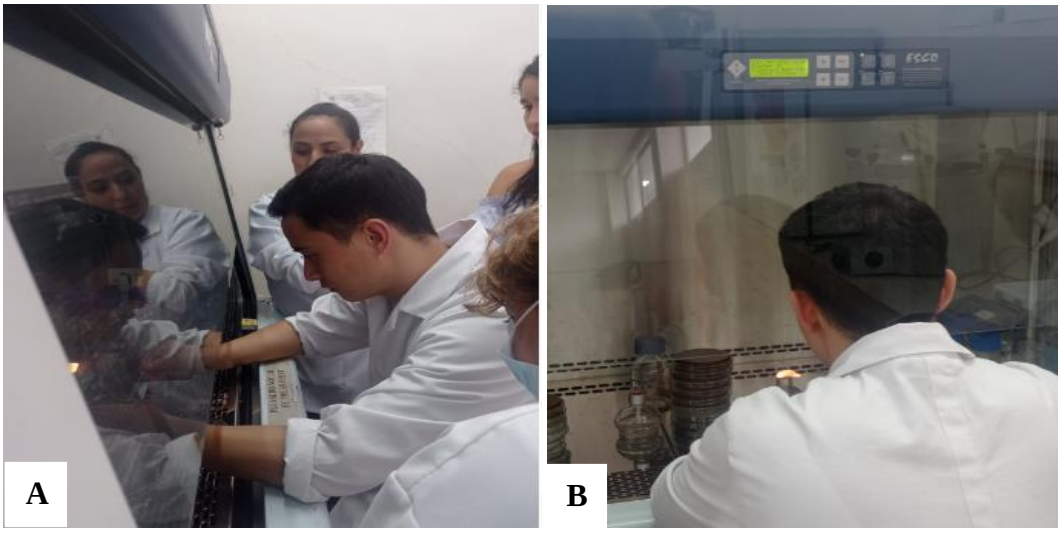
Anexo 2.

Preparación de concentraciones en extracto acuoso y alcohólico



Anexo 3.

Siembra de Aspergillus oryzae en cámara de flujo laminar



Anexo 4.

Medios de cultivo extracto acuoso (A), alcohólico (B) y su respectivo control negativo

