



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS



CARRERA DE AGRONOMÍA

**Efecto de glucosinolatos sobre la inhibición del crecimiento micelial
de *Phytophthora infestans* de Bary *in vitro*.**

DOCUMENTO FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN COMO
REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE INGENIERO AGRÓNOMO

AUTOR:

Blas Plutarco Vasconez Saltos

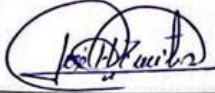
TUTOR:

Ing. Mg. José Hernán Zurita Vásquez

CEVALLOS, 2024

**“Efecto de glucosinolatos sobre la inhibición del crecimiento micelial de
Phytophthora infestans de Bary *in vitro*.”**

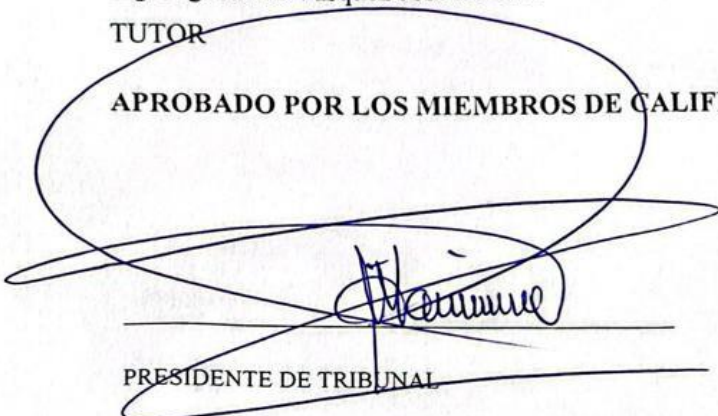
REVISADO POR:



Ing. Mg. Zurita Vásquez José Hernán
TUTOR

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN:

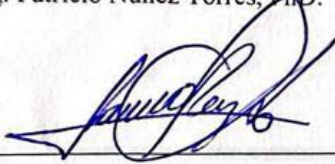
Fecha



07/02/2024

PRESIDENTE DE TRIBUNAL

Ing. Patricio Núñez Torres, PhD.



07/02/2024

Ing. Pérez Salinas Marcos Oswaldo, PhD.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN



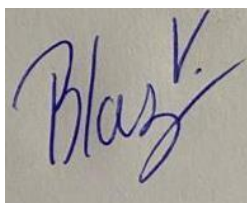
07/02/2024

Dr. Leiva Mora Michel, PhD.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

El suscrito, BLAS PLUTARCO VASCONEZ SALTOS, portador de la cédula de ciudadanía número:1550154346, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de Investigación titulado: “**Efecto de glucosinolatos sobre la inhibición del crecimiento micelial de *Phytophthora infestans* de Bary *in vitro*.**” Es original, auténtico y de mi autoría. En tal capacidad, declaro que el contenido es de mi absoluta responsabilidad legal y académica, con excepción de la utilización de fuentes consultadas.



Blas Plutarco

Vasconez Saltos

C.I. 1550154346

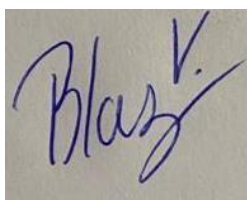
AUTOR

DERECHO DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “**Efecto de glucosinolatos sobre la inhibición del crecimiento micelial de *Phytophthora infestans* de Bary *in vitro***” Como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Ingeniero Agrónomo, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato a publicación de este Informe Final, o de parte de él.



Blas Plutarco Vasconez Saltos

DEDICATORIA

A Dios por haberme bendecido dándome la vida y ayudarme a llegar a este momento el cual es muy importante en mi vida, mi formación profesional.

A las personas más importantes en mi vida mi mamá Marcia Saltos y mi papá Peter Vasconez:

Con mucho amor y cariño dedico este logro a mis dos pilares fundamentales ya que por ustedes he podido realizar mis estudios desde que era un niño en la escuela hasta este momento que estoy a punto de culminar un título de universidad, por todo ese apoyo tanto económico como moral, por haber estado siempre ahí conmigo y por guiarme en todo este proceso, por todo el cariño y sacrificio que han hecho para poder ayudarme con todo el proceso que ha sido para llegar a este punto.

Este logro no es solo mío sino también de ustedes papá y mamá ya que por ustedes he podido llegar a este punto, han sido una inspiración para mí y un ejemplo a seguir para mi vida, esta tesis y todo en mi vida ha sido gracias a ustedes. Espero que esta dedicación les haga sentir orgullosos tal como yo siento el orgullo de ser su hijo.

A toda mi familia por haberme apoyado siempre y aconsejarme en momentos de duda y tristeza.

A una persona especial la cual ha estado apoyándome a lo largo de mi carrera universitaria dándome ánimos, tranquilidad, amor y paz en mis momentos de soledad.

Con todo mi amor y cariño,

BLAS PLUTARCO VASCONEZ SALTOS

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica de Ambato y en especial a la Facultad de ciencias agropecuarias ya que gracias a ellos he podido obtener conocimientos a lo largo de todos los semestres concurridos

Expreso mi más sincero agradecimiento a todos los que me han apoyado para la realización de mi tesis. Primeramente, quiero agradecer a mi tutor de tesis, el Ingeniero. Mg. Hernán Zurita, por haberme guiado en todo este proceso de la realización de tesis, sus consejos y apoyos los cuales han sido precisos para contribuir a mi tesis. Su compromiso y esfuerzo ha sido imprescindible para realizar con éxito este trabajo.

De igual manera quisiera agradecer a todos los encargados de los laboratorios en los cuales pude realizar los procesos de este trabajo ya que gracias a sus conocimientos y consejos se pudo culminar el ensayo con éxito.

Gracias al Dr. Michel Leiva el cual a sido una gran ayuda con todo su conocimiento para llevar a cabo el ensayo.

También mi agradecimiento va dirigido a todos los docentes y personal académico ya que gracias a ellos pude obtener el conocimiento de mi carrera universitaria, ya que han ayudado a formarme académica y personalmente.

Muchas gracias de igual manera a mi familia los cuales han sabido escucharme, aconsejarme, apoyarme y guiarme en mi vida y en la universidad y en especial a mi mamá y a mi papá por todo lo que han hecho por mi para poder culminar mi formación profesional.

Como no agradecer a todos mis amigos los cuales han estado a lo largo de toda mi carrera apoyándome moralmente y ayudándome en mis momentos malos, saliendo a todos sitios y teniendo muchas anécdotas por contar.

Agradezco a todas las personas que han podido apoyarme o haber contribuido en mi carrera profesional para poder llegar a culminar este logro.

¡MUCHISIMAS GRACIAS!,

BLAS PLUTARCO VASCONEZ SALTOS

INDICE

| | |
|---|----|
| Contenido | |
| ABSTRACT | 15 |
| INTRODUCCIÓN | 16 |
| CAPITULO I..... | 18 |
| MARCO TEÓRICO | 18 |
| 1.1 Antecedentes generales | 18 |
| 1.2 Antecedentes investigativos..... | 18 |
| 1.3 Objetivos | 20 |
| 1.3.1 Objetivo general | 20 |
| 1.3.2 Objetivos específicos | 20 |
| 1.4 Características fundamentales..... | 21 |
| 1.4.1 Características de (<i>Phytophthora infestans</i> de Bary) | 21 |
| 1.4.2 Ciclo de vida | 21 |
| 1.4.2.1 Sintomatología..... | 22 |
| 1.4.3 Papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.) | 22 |
| 1.4.3.1 Clasificación taxonómica | 22 |
| 1.4.3.2 Descripción botánica..... | 23 |
| 1.4.3.3 Requerimientos edafoclimáticos | 24 |
| 1.5 Glucosinolatos..... | 24 |
| 1.6 Brócoli (<i>Brassica oleracea</i> Var. <i>italica</i>) | 24 |
| 1.6.1 Clasificación taxonómica | 25 |

| | |
|---|-----------|
| 1.6.2 Descripción botánica..... | 25 |
| 1.6.3 Contenido de glucosinolatos..... | 26 |
| 1.7 Col de Bruselas (<i>Brassica oleracea</i> Var. <i>gemmifera</i>)..... | 26 |
| 1.7.1 Clasificación taxonómica..... | 26 |
| 1.7.2 Descripción botánica..... | 27 |
| 1.7.3 Contenido de glucosinolatos..... | 27 |
| CAPITULO II | 28 |
| 2 Materiales | 28 |
| 2.1 Material experimental | 28 |
| 2.1.1 Materiales | 28 |
| 2.1.3 Equipos..... | 28 |
| 2.2 Métodos | 29 |
| 2.2.1 Descripción del área de estudio..... | 29 |
| 2.3 Factores en estudio..... | 29 |
| 2.4 Tratamientos a aplicar..... | 29 |
| 2.5 Diseño experimental..... | 30 |
| 2.6 Variable respuesta..... | 30 |
| 2.6.1 Crecimiento de <i>P. infestans</i> en el medio de cultivo | 30 |
| 2.6.2 Determinación de porcentaje de inhibición | 30 |
| 2.7 Manejo del experimento | 31 |
| 2.7.1 Preparación de extracto de plantas | 31 |

| | |
|---|-----------|
| 2.8 Reproducción de <i>P. infestans</i> | 31 |
| 2.9 Siembra de <i>P. infestans</i> | 31 |
| CAPITULO III | 33 |
| RESULTADOS Y DISCUSIONES | 33 |
| 3.1. Análisis y discusión de resultados | 33 |
| 3.1.2 Crecimiento micelial de (<i>Phytophthora infestans</i>) | 33 |
| 3.1.3 Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de <i>Phytophthora infestans</i> | 35 |
| 3.2. Verificación de hipótesis | 37 |
| CAPITULO IV | 38 |
| CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 38 |
| 4.1 CONCLUSIONES | 38 |
| 4.2 RECOMENDACIONES | 38 |
| MATERIALES DE REFERENCIA | 39 |
| Anexos | 43 |

INDICE DE TABLAS

| | |
|---|-----------|
| Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>Phytophthora infestans</i> de Bary | 21 |
| Tabla 2. Clasificación taxonómica de la papa <i>Solanum tuberosum</i> L. | 23 |
| Tabla 3. Clasificación taxonómica de la papa <i>B. oleracea</i> L. var. <i>italica</i> | 25 |
| Tabla 4. Clasificación taxonómica de la papa <i>B. oleracea</i> L. var. <i>gemmifera</i> | 26 |
| Tabla 5. Tratamientos de los glucosinolatos para <i>P. infestans</i>..... | 29 |
| Tabla 6 Concentraciones para preparar los medios de cultivo..... | 32 |
| Tabla 7. Crecimiento micelial de <i>Phytophthora infestans</i> analizado con distintas | 34 |
| Tabla 8. Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de <i>P. infestans</i> | 36 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|--|-----------|
| Anexo 1. Análisis estadístico | 43 |
| Anexo 1.1. Análisis estadístico de crecimiento micelial de <i>P. infestans</i> | 43 |
| Anexo 1.2. Análisis estadístico de la inhibición de <i>P. infestans</i> | 50 |
| Anexo 2. Cámara húmeda para propagación de <i>Phytophthora infestans</i> de Bary. 58 | |
| Anexo 3. Vista de <i>P. infestans</i> bajo microscopio | 58 |
| Anexo 4. Preparación de hojas de coles de Bruselas y de Brócoli para ponerlas en estufa | 59 |
| Anexo 5. Hojas de Coles de Bruselas y Brócoli en estufa | 59 |
| Anexo 6. Hojas trituradas de Brócoli y Col de Bruselas. | 60 |
| Anexo 7. Macerado de hojas de Col Bruselas y de Brócoli en alcohol al 70%... 60 | |
| Anexo 8. Destilación | 61 |
| Anexo 9. Preparación de medio | 62 |
| Anexo 10. Esterilización de materiales..... | 63 |
| Anexo 11. Siembra | 64 |
| Anexo 12. Toma de datos..... | 65 |
| Anexo 13. Comparación | 66 |
| Figura 1. | 61 |
| Figura 2. | 61 |
| Figura 3. | 61 |
| Figura 4. | 62 |
| Figura 5. | 62 |

| | |
|--------------------------|-----------|
| Figura 6. | 63 |
| Figura 7. | 63 |
| Figura 8. | 63 |
| Figura 9. | 64 |
| Figura 10. | 64 |
| Figura 11. | 65 |
| Figuras 12. | 65 |
| Figura 13. | 66 |
| Figura 14. | 66 |
| Figura 15. | 67 |
| Figura 16. | 68 |
| Figura 17. | 68 |

RESUMEN

Esta investigación se realizó en el laboratorio de Sanidad vegetal y en el laboratorio de bio- insumos de la Universidad Técnica de Ambato de la facultad de Ciencias Agropecuarias, ubicada en el Cantón Cevallos en el km 4 vía Quero, a una distancia de 20 km de la Ciudad de Ambato, con una altitud de 2850msnm, con el objetivo de evaluar el efecto de glucosinolatos sobre la inhibición del crecimiento micelial de *Phytophthora infestas* De bary *in vitro*, en esta investigación se usaron dos especies: Brócoli (*Brassica oleracea* var. Itálica) y col de Bruselas (*Brassica oleracea* var. gemmifera) en concentraciones del 10%, 20% y 30% de cada extracto de glucosinolatos. Los datos se recolectaron por 9 días equivalente a 216 horas en intervalos de 24 horas, para medir el crecimiento micelial se trazaron dos líneas en la caja de Petri pasando por el centro del halo de crecimiento del microorganismo. Se utilizó el análisis estadístico, diseño completamente al azar (DCA), con 6 tratamientos y un testigo, con tres repeticiones, se aplicó el paquete estadístico INFOSTAT, y a las variables que presentaron diferencias estadísticas se efectuaron las pruebas de significación de Tukey al 5%. El tratamiento E2C3 que corresponde al glucosinolatos de col de Bruselas al 30%, reportó mejores resultados para las variables crecimiento micelial y porcentaje de inhibición con promedios de 12,33 mm y 81,19% respectivamente, mientras que el testigo presentó un crecimiento micelial de 65,55 mm y un porcentaje de inhibición del 0%. De acuerdo con los resultados obtenidos en la investigación la utilización de glucosinolatos de col de Bruselas es una alternativa para el control biológico de *P. infestans*.

PALABRAS CLAVES: Crecimiento micelial, glucosinolatos, inhibición, porcentaje

ABSTRACT

This research was conducted in the laboratories of Plant Health and the bio-inputs laboratory at the Technical University of Ambato, Faculty of Agricultural Sciences, located in the Cevallos Canton on the Quero road at a distance of 20 km from the city of Ambato, at an altitude of 2850 meters above sea level. The objective was to evaluate the effect of glucosinolates on the inhibition of the mycelial growth of *Phytophthora infestans* De Bary in vitro. Two species were used in this research: Broccoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*) and Brussels sprouts (*Brassica oleracea* var. *Gemmifera*) at concentrations of 10%, 20%, and 30% of each glucosinolate extract. Data were collected over 9 days, equivalent to 216 hours, at 24-hour intervals. To measure the mycelial growth, two lines were drawn in the Petri dish passing through the center of the microorganism's growth halo. Statistical analysis was performed using a completely randomized design (CRD) with 6 treatments and one control, with three replications. The statistical package INFOSTAT was used, and Tukey's significance tests at 5% were applied to variables showing statistical differences. The treatment E2C3, corresponding to Brussels sprouts glucosinolate at 30%, reported better results for the mycelial growth and inhibition percentage with averages of 12.33 mm and 81.19%, respectively. In contrast, the control showed a mycelial growth of 65.55 mm and an inhibition percentage of 0%. According to the results obtained in the research, the use of Brussels sprouts glucosinolates is an alternative for the biological control of *P. infestans*.

KEYWORDS: Mycelial growth, glucosinolates, inhibition, percentage.

INTRODUCCIÓN

Las especies del género *Phytophthora* son patógenos hemibiotróficos con una considerable importancia en los cultivos agrícolas, debido a que ocasionan grandes pérdidas económicas en un amplio rango de hospederos (Roy y Grünwald, 2014); entre las especies más agresivas se encuentran: *Phytophthora ramorum* causante de la muerte repentina del roble, *Phytophthora palmivora* Zoosporas agente causal de la pudrición en palma, *Phytophthora capsici* patógeno que ocasiona marchitez y pudrición en cucurbitáceas y *Phytophthora infestans* agente causal del tizón tardío en solanáceas (Soto et al., 2017).

P. infestans es un patógeno casi obligado en condiciones naturales, su ciclo asexual permite que se desarrolle con rapidez (Soy Fry, 2008). Este agente fitopatógeno ocasiona el tizón tardío en *Solanum tuberosum* L., uno de los cultivos con mayor importancia económica y alimenticia a nivel mundial (Jerez y Martín, 2012), la incidencia de esta enfermedad se acentúa en zonas de alta humedad relativa entre el 40% y el 60% y temperaturas bajas de entre 8 y 15 °C, lo cual causa la muerte de hojas, tallo y tubérculos de la planta (Martínez y Osorio, 2007).

Durante aproximadamente 150 años se ha tratado de combatir este patógeno, sin embargo, ningún método ha sido suficientemente efectivo y cada año las pérdidas económicas se incrementan (Haverkort et al., 2009). El uso continuo de fungicidas ha sido la herramienta más común para combatir *P. infestans*, lo que ha traído consigo problemas por los elevados costos, daños en el ambiente y en la salud, además de producir cepas resistentes (Pacilly et al., 2016; González-Tobón et al., 2019; Ivanov et al., 2021).

La efectividad de algunos productos químicos como el Metalaxyl y Cymoxanil en diversas partes del mundo se ha venido reduciendo progresivamente debido a la aparición de resistencia en las poblaciones de este patógeno, puesto que se genera una alta presión de selección por la utilización continua de estas moléculas (García et al., 2008).

Con el avance de la tecnología se ha buscado crear nuevas herramientas que permitan reducir el hongo *P. infestans*, como, por ejemplo, el uso de biosurfactantes

bacterianos que representan una alternativa para el control biológico al retrasar su crecimiento (**Martínez y Osorio, 2007**). Además, el uso de compuestos bioactivos como los glucosinolatos también representa un método alternativo para manejar la enfermedad.

Brassicaceae es una familia comprendida por 3977 especies, entre las que sobresalen el brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica* Plenck), coles de Bruselas (*B. oleracea* var. *gemifera* (DC.) Zenker), repollo (*B. oleracea* var. *capitata* L.) (**Ilahy et al., 2020**). Las especies del género *Brassica* son muy utilizadas en diversos ámbitos por sus propiedades, destacando por su contenido de glucosinolatos (**Baenas et al., 2017**).

Los glucosinolatos son compuestos nitrógeno-azufrados, la diferencia entre los diferentes tipos de glucosinolatos radica en la modificación bioquímica: desaturación y glicosilación que afectan en su estructura y en sus propiedades (**Moreno y García-Viguera, 2008**). No obstante, la variación del contenido de este compuesto bioactivo dependerá de las condiciones climáticas, manejo del cultivo, cosecha, almacenamiento y procesamiento (**Vázquez-González et al., 2020**).

Los glucosinolatos son reconocidos por sus efectos biológicos, entre los que se pueden mencionar los efectos alelopáticos, resistencia a plagas y enfermedades, activación de respuestas defensivas frente a ataques de herbívoros y agentes fitopatógenos (**Velasco et al., 2018**). Numerosos estudios han demostrado que estos compuestos presentan una toxicidad absoluta, inhibición del crecimiento de nemátodos, bacterias, hongos y oomicetes. Cuando los glucosinolatos se liberan en el suelo a partir de exudados de raíces o la descomposición de órganos de las plantas, pueden tener efectos importantes en la comunidad de la rizosfera (**Halkier & Gershenzon, 2006**).

CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes generales

El tizón tardío causado por *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary es la enfermedad más importante en el cultivo de la papa causando pérdidas anuales de entre 10% y 15% de la producción (Carranza-Arévalo, 2017). Por tradición, los agricultores utilizan productos químicos para el control de esta enfermedad, lo que ha generado diversos inconvenientes, tales como los elevados costos de producción y por ende la reducción en la rentabilidad del cultivo, el desarrollo de resistencia del patógeno y, en consecuencia, el riesgo que estos representan para la salud de productores y consumidores, además del daño al medio ambiente (Carranza et al., 2019).

1.2 Antecedentes investigativos

Poveda et al. (2020) en su investigación titulada “Natural control of plant pathogens through glucosinolates: An effective strategy against fungi and oomycetes”, mencionaron que los glucosinolatos (GSLs) son metabolitos secundarios presentes en los tejidos de plantas pertenecientes al orden Brassicales y están relacionados con la capacidad defensiva de la planta frente a diversos agentes fitopatógenos. Se ha demostrado el efecto de varios GSLs contra varios patógenos fúngicos y oomicetos, a nivel *in vitro*, lo cual representa una buena estrategia de control.

Doheny-Adams et al. (2017) mediante su artículo titulado “Development of an efficient glucosinolate extraction method”, evaluaron diferentes métodos utilizados para extraer glucosinolatos de tejidos de brasicáceas: la extracción en metanol frío, extracción en metanol hirviendo y extracción en agua hirviendo, se demostró que la extracción con metanol en frío funcionó similar a los otros métodos, el método de liofilización redujo las concentraciones finales de glucosinolatos y la extracción con metanol en frío al 80% es más eficaz.

Liu et al. (2021) en su artículo titulado “The roles of cruciferae glucosinolates in disease and pest resistance”, mencionaron que las especies de *Brassica* con alto contenido de glucosinolatos pueden mejorar la resistencia de las plantas a las enfermedades (bacterias, hongos y oomicetos) y plagas y por ende reducir el uso de pesticidas. Los extractos acuosos de hojas de crucíferas restringen el crecimiento de

diversos hongos, bacterias, oomicetes y plagas. Además, estos compuestos generan una resistencia de amplio espectro contra plagas y enfermedades y, por lo tanto, puede usarse para desarrollar pesticidas botánicos.

Ashiq et al. (2022) en la investigación realizada sobre el potencial de biofumigación de especies pertenecientes a Brassicaceae (*Brassica juncea* L., *Raphanus sativus* L., *Eruca sativa* L.) contra *F. graminearum*, mencionan que la concentración total de glucosinolatos de *B. juncea* 'Brons' aumentaron con el avance de la etapa de crecimiento, además, los discos foliares de *Brassica juncea* fueron efectivos contra el crecimiento micelial, mientras que el contenido de sinigrina en el tejido foliar correspondió al nivel de supresión. Los discos foliares de *Brassica juncea* Caliente Rojo' recolectados en la etapa de extensión del tallo mostraron una inhibición del 94% con ocho discos. En el experimento del frasco cerrado, cada especie de *Brassica* suprimió significativamente el inóculo de *F. graminearum* en un 41–55 %.

Aires et al. (2009) en la investigación realizada sobre el efecto de extractos de plantas de las Brassicaceae para el control del nemátodo *Globodera rostochiensis*, mencionan que las enmiendas del suelo a partir de partes de plantas crucíferas han tenido un buen efecto como prácticas potenciales de bio fumigación. Evaluaron el efecto de 2 concentraciones (0.2 y 0.05 $\mu\text{moles } 100\text{g}^{-1}$ peso seco) de glucosinolatos de seis plantas (brócoli, coliflor, hojas de nabo, hojas de kale, col portuguesa y berro), se demostró que estos extractos y concentraciones tuvieron un efecto altamente significativo en la reducción del nemátodo del quiste de la papa.

Waisen et al. (2020) en su investigación sobre el efecto de especies de Brassicaceae para el control de *Meloidogyne spp.*, se utilizaron hojas y tallos enterrados de *E. sativa*, *R. sativus*, *B. oleracea* var. capitata o *B. juncea* y se comprobó que las poblaciones de este nemátodo se redujeron en más del 80%.

Aires et al. (2009) en la investigación realizada sobre el efecto de extractos de plantas Brassicáceas para el control del nemátodo *Globodera rostochiensis*, mencionan que las enmiendas del suelo a partir de partes de plantas crucíferas han tenido un buen efecto como prácticas potenciales de bio fumigación. Evaluaron el efecto de 2 concentraciones (0.2 y 0.05 $\mu\text{moles } 100\text{g}^{-1}$ peso seco) de glucosinolatos de seis plantas (brócoli, coliflor, hojas de nabo, hojas de kale, col portuguesa y berro), se

demonstró que estos extractos y concentraciones tuvieron un efecto altamente significativo en la eliminación del nemátodo del quiste de la papa.

Waisen et al. (2020) en su investigación sobre el efecto de especies de Brassicáceas para el control de *Meloidogyne spp.*, se utilizaron hojas y tallos enterrados de *E. sativa*, *R. sativus*, *B. oleracea* var. capitata o *B. juncea* y se comprobó que las poblaciones de este nemátodo se redujeron en más del 80%.

Alvarez S et al. (2011) en la investigación que se realizó sobre sensibilidad *in vitro* del tizón tardío al extracto de fique evaluaron tratamientos alternativos para controlar el tizón tardío de la papa y se encontró que el bioproducto de fique tiene una sensibilidad similar a los productos comerciales Ridomil Gold ® y Curzate ®, mostrando su potencial para su uso en estudios de campo.

Zapata R et al. (2003) según los estudios realizados sobre la reducción del desarrollo de hongos fitopatógenos con extractos de cardón lefaria se realizaron extracciones de secciones medias de tallos de *Cereus deficiens* para buscar alternativas naturales de control de enfermedades de plantas. Los extractos mostraron presencia de metabolitos secundarios y redujeron el crecimiento micelial de hongos fitopatógenos, especialmente *Phytophthora infestans* y *Sclerotium rolfsii*.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de glucosinolatos sobre la inhibición del crecimiento micelial de *Phytophthora infestans* de Bary *in vitro*.

1.3.2 Objetivos específicos

- Definir la concentración de glucosinolatos que muestre mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial de *P. infestans*.
- Determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *P. infestans* en el medio de cultivo agar harina de maíz.

1.4 Características fundamentales

1.4.1 Características de (*Phytophthora infestans* de Bary)

Phytophthora infestans de Bary pertenece al reino Chromista y agrupa a más de 700 especies y al filo Pseudofungi, el cual se caracteriza por tener zoosporas.

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Phytophthora infestans* de Bary

| TAXONOMÍA | |
|-----------------|-------------------------------|
| Reino | Chromista |
| División | Oomycota |
| Clase | Oomycete |
| Orden | Phytiales |
| Familia | Phytiaceae |
| Género | <i>Phytophthora</i> |
| Especie | <i>Phytophthora infestans</i> |

Fuente: INIA (2019)

1.4.2 Ciclo de vida

Phytophthora infestans tiene un ciclo de vida. La infección generalmente comienza con la deposición de esporangio en una hoja o tallo del huésped. Los esporangios germinan directamente mediante la producción de un tubo germinativo que penetra en el tejido del huésped. Los esporangios pueden germinar a temperaturas entre 7 y 13°C cuando hay agua libre en las hojas. Después de la penetración, las hifas comienzan la colonización intracelular del tejido huésped (**Berhan, 2021**).

El haustorio desarrolla y extrae nutrientes desde el interior de las células del huésped y, por lo tanto, destruye el tejido de la planta, lo que da lugar a una lesión necrótica. Después de un par de días, los esporangióforos emergen alrededor del borde de la lesión y el viento puede dispersar los esporangios. El ciclo asexual se puede repetir cada 5 a 7 días y es un importante fenómeno de epidemias policíclicas rápidas (**Berhan, 2021**).

En la reproducción sexual, *Phytophthora infestans* es heterotálica, por lo que se requieren dos tipos de apareamiento. Implica la producción de un órgano sexual masculino (Anteridio) y un órgano sexual femenino (Oogonio) que pueden contener

uno o varios huevos. La meiosis ocurre dentro de estos órganos sexuales y la fertilización se logra mediante la transferencia de un solo núcleo haploide a cada óvulo haploide, y esto conduce al desarrollo de oosporas **(Leesutthiphonchai et al., 2018)**.

1.4.2.1 Sintomatología

El crecimiento intercelular profuso del micelio y el desarrollo haustorial dan como resultado daño celular del huésped con la aparición de manchas de color marrón verdoso o amarillentas que se vuelven negras con el progreso de la enfermedad. Cuando el clima es adecuado para el crecimiento de *P. infestans*, otras partes de la papa se dañan gravemente, lo que provoca el marchitamiento de plantas enteras. En condiciones húmedas, se produce la formación de esporangios en los esporangióforos que comienzan la esporulación, haciendo visible el micelio en la superficie inferior de las hojas **(Majeed et al., 2017)**.

1.4.3 Papa (*Solanum tuberosum* L.)

La papa *Solanum tuberosum* L. es una planta herbácea tuberosa que aporta una alta cantidad de carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales, considerada como el cuarto alimento más consumido a nivel mundial detrás del arroz, trigo y maíz. Los países con mayor extensión de papa cultivada es China con 3.5 millones ha/año seguida de Rusia con 3.4 millones ha/año y Ucrania con 1.6 millones ha/año. **(Basantes et al., 2020)**.

La diversidad de especies de papa inició con forma diploide y su diversificación se produjo por hibridación, el INIAP en el año de 1994 realizó una colección de 400 tipos de papas entre *S. andigena* y *S. phureja*, actualmente esta colección superó los 550 tipos adicionando las especies *S. chaucha* y *S. stenotomum*, mientras que en el país se siembran 30 variedades entre las más importantes: Super chola, Cecilia, Unica, INIAP Frippapa, etc., repartidas entre las 9 provincias de Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo, Bolívar, Cañar, Azuay y Loja **(INIAP, 2021)**.

1.4.3.1 Clasificación taxonómica

La papa *S. tuberosum* pertenece a la familia Solanaceae, que comprende alrededor de 90 géneros y 2.800 especies.

Tabla 2. Clasificación taxonómica de la papa *Solanum tuberosum* L.

| TAXONOMÍA | |
|-----------------|-----------------------------|
| Reino | Plantae |
| División | Magnoliophyta |
| Clase | Magnoliopsida |
| Orden | Solanales |
| Familia | Solanaceae |
| Género | <i>Solanum</i> |
| Especie | <i>Solanum tuberosum</i> L. |

Fuente: Sahair et al. (2018)

1.4.3.2 Descripción botánica

Sahair et al. (2018) mencionaron que las plantas de papa *Solanum tuberosum* L. pertenecen a la familia de las solanáceas, son dicotiledóneas herbáceas, anuales, las cuales se encuentran conformadas por las siguientes partes:

Tubérculo: es una parte agrandada de un tallo subterráneo a partir del cual se producen nuevos brotes, morfológicamente se considera un tallo carnoso, contiene yemas y ojos, los cuales están cerca del extremo apical del tubérculo, con un pequeño número cerca del estolón o extremo basal. El número de ojos y la distribución son características de la variedad.

Tallo: en los primeros estadios el tallo es erecto, posteriormente se vuelve proliferante y prostático.

Hojas: las hojas son alternas y compuestas, pinnadas impares asimétricamente, con 6-8 pares de folíolos, el pecíolo mide de 2,5-5 cm de largo, forma ovoide del limbo del folíolo de 1-6 cm a 2-10 cm, de color verde oscuro, que termina en un pinnado residual,

en su mayoría escasamente piloso.

Raíces: la raíz es pivotante fibrosa o tuberosa.

Semilla: posee semilla endosperma.

Flor: posee una inflorescencia compuesta de 1-30 (generalmente 7-15) flores, dependiendo del mantenimiento y cultivo. Los cinco pétalos forman una flor abierta en forma de estrella.

1.4.3.3 Requerimientos edafoclimáticos

La papa es una planta que requiere idealmente de un clima templado con temperaturas promedio de entre 14 a 20 °C, cuando las éstas son superiores a los 30 °C e inferiores a los 10 °C son perjudiciales para el desarrollo óptimo de los tubérculos. Este cultivo no tiene la capacidad de tolerar las sequías, por ello, es indispensable mantener una humedad relativa que oscile entre el 80 y 85 % principalmente en la etapa de tuberización. La altitud óptima para su desarrollo es de 2600 a 3600 msnm. En cuanto al tipo de suelo presenta un buen crecimiento en suelos de textura franco-arcillosa, que sean profundos con buen drenaje, con un pH de 5,2 a 6,4 y con un contenido alto de materia orgánica (**Vignola et al., 2017**).

1.5 Glucosinolatos

Los glucosinolatos (GSL) son un grupo de metabolitos vegetales secundarios, estos fitoquímicos son compuestos de azufre derivados de aminoácidos cuya principal actividad biológica en las plantas es actuar como defensa contra patógenos y plagas. Están compuestos por una cadena lateral derivada de un aminoácido, un grupo oxima sulfonado y un grupo tioglucosa (Mitreiter y Gigolashvili, 2021). Estos compuestos se producen en muchos tejidos y órganos vegetales, en diferentes cantidades y tipos (**Touw et al., 2020**).

Las especies de plantas Brassicaceae generan diversos conjuntos de metabolitos secundarios que contienen azufre y nitrógeno en sus estructuras, conocidos colectivamente como glucosinolatos (**Hiruma, 2019**). Las principales especies vegetales pertenecientes al género Brassica son *Brassica napus* (colza), *Brassica oleracea* (brócoli, repollo, coliflor, col rizada, coles de Bruselas, etc.), *Brassica rapa* (nabo, col china y pak choi), *Brassica juncea* y *Brassica carinata* (mostaza).

1.6 Brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*)

El brócoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*), es un vegetal que pertenece a la familia Brassicaceae cuyo origen más probable se centra en Asia Occidental y las costas de la zona noreste del Mediterráneo (desde Grecia hasta Siria). El brócoli es una buena fuente de vitaminas del grupo B, como riboflavina, niacina y tiamina, así como de compuestos con actividad de provitamina A (β -Caroteno). Además, presenta un alto contenido en vitaminas antioxidantes (C, A), potasio, fibra y bajo aporte calórico (Martínez et al., 2017).

1.6.1 Clasificación taxonómica

Tabla 3. Clasificación taxonómica de la papa *B. oleracea* L. var. *italica*.

| TAXONOMÍA | |
|-----------------|---|
| Reino | Plantae |
| División | Angiospermas |
| Clase | Dicotiledónea |
| Orden | Papaverales |
| Familia | Brassicaceae |
| Género | <i>Brassica</i> |
| Especie | <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>italica</i> |

Fuente: Noé (2020)

1.6.2 Descripción botánica

Noé (2020) mencionó que la descripción botánica de *B. oleracea* L. var. *italica* se resume de esta manera:

La raíz del brócoli es pivotante con muchas ramificaciones superficiales.

El tallo floral nace de axilas foliares.

Las hojas suelen ser de color verde más oscuro que las de la coliflor, más rizadas y festoneadas, con ligeras espículas, limbo hendido que en la base de la hoja puede dejar a ambos lados del nervio central, pequeños fragmentos de limbo foliar a modo de foliolos.

Las flores son amarillas, sobre inflorescencias racemosas, de polinización alógama y

la fructificación se produce en silicuas.

Las semillas son redondeadas de color parduzco.

1.6.3 Contenido de glucosinolatos

Los brotes de brócoli son una rica fuente de glucosinolatos, los predominantes son la glucorafanina y la glucoerucina, que se hidrolizan en los isotiocianatos sulforafano y erucina, respectivamente. El sistema glucosinato-mirosinasa es un sistema de defensa química vegetal, la enzima vegetal endógena mirosinasa se libera cuando el tejido de las verduras crucíferas es atacado por insectos o microorganismos (Westphal et al., 2017).

1.7 Col de Bruselas (*Brassica oleracea* Var. *gemmifera*)

Coles de Bruselas (*Brassica oleracea* variedad *gemmifera*) es miembro de la familia Brassicaceae, es un importante cultivo de hortalizas y tiene alta nutrición y buen valor comercial. La parte comestible de las coles de bruselas son cogollos (brotes) que desarrollan bajo la axila de cada hoja. Las hojas se colocan a lo largo del tallo, por lo que el número de hojas y brotes se formarán acorde a la altura del tallo, por lo tanto, el rendimiento. Las coles de Bruselas contienen compuestos fitoquímicos que mejoran la actividad de defensa de plantas, los llamados glucosinolatos son compuestos formados por azufre y nitrógeno (Omar, 2017).

1.7.1 Clasificación taxonómica

Tabla 4. Clasificación taxonómica de la papa *B. oleracea* L. var. *gemmifera*.

| TAXONOMÍA | |
|-----------------|---|
| Reino | Plantae |
| División | Angiospermas |
| Clase | Dicotiledónea |
| Orden | Papaverales |
| Familia | Brassicaceae |
| Género | <i>Brassica</i> |
| Especie | <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>gemmifera</i> |

Fuente: Ramos (2021)

1.7.2 Descripción botánica

Ramos (2021) mencionó que la col de Bruselas se describe de la siguiente manera:

Tallo: tiene un tallo de porte erguido de 64.06 a 91.15 cm, de altura.

Hojas: las hojas son largas pecioladas, de limbos ovales o redondos y que termina en una roseta de hojas.

Yemas axilares: las yemas axilares de las hojas laterales del tallo forman unos pequeños repollos.

Pellas o cogollos: en las axilas de las hojas laterales existen unas yemas foliáceas que a lo largo del ciclo vegetativo se hipertrofian.

Flor: las flores son amarillas, sobre inflorescencias racemosas, las flores están compuestas de cuatro sépalos y cuatro pétalos, formando una abertura terminal en forma de cruz, seis estambres, cuatro largos y dos cortos; un estilo corto con estigma en forma de cabezuela; un ovario supero.

1.7.3 Contenido de glucosinolatos

Las plántulas de coles de Bruselas contienen una alta concentración de glucosinolatos, la actividad de mirosinasa residual y la concentración de glucosinolatos difieren según las combinaciones de presión, tiempo y temperatura. Existe una máxima inactivación de la mirosinasa y la conservación del glucosinolato(85 % del nivel sin tratar) con HP a 600 MPa, 60 °C, 10 min (**Wang 2018**).

CAPITULO II

2 Materiales

2.1 Material experimental

- Repollos de brócoli.
- Coles de Bruselas.
- Tubérculos de papa.

2.1.2 Materiales

- Cajas Petri.
- Agar harina de maíz
- Puntas para sembrar microorganismos.
- Mecheros de alcohol.
- Papel Parafilm.
- Alcohol al 70%.
- Agua desionizada estéril.
- Frascos ámbar de vidrio.
- Papel aluminio.
- Frascos estériles.
- Probetas (50 ml).
- Vasos de precipitación (100 ml, 500 ml, 1000 ml).
- Frascos autoclavables (500 ml, 1000 ml).

2.1.3 Equipos

- Autoclave.
- Balanza analítica.
- Destilador de agua.
- Agitador magnético.
- Cabina de flujo laminar.
- Incubadora.
- Microondas.
- Refrigeradora.

2.2 Métodos

Una vez registrados los datos, se registró en el programa de Excel toda la información después de esto se realizó cuadros donde se ubica la inhibición y los diámetros de cada extracto a cada concentración se usó el programa INFOSTAT y se realizó la prueba de Tukey al 5% para comprobar la significatividad de cada uno.

2.2.1 Descripción del área de estudio

La investigación se realizó en los Laboratorios de Sanidad Vegetal y bio- insumos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, en el sector el Tambo, perteneciente al cantón Cevallos, provincia de Tungurahua. Se encuentra localizado a 2850 msnm, las coordenadas geográficas son: 01° 24' 27" de latitud Sur y 78° 35' 00" de longitud al Oeste, ubicado a 19,31 km, al Sureste de Ambato.

2.3 Factores en estudio

Tipo de glucosinolato

- Brócoli E1

- Col de Bruselas E2

Concentración

- 10% C1

- 20% C2

- 30% C3

$2 \times 3 + 1$ Testigo = 7 tratamientos

2.4 Tratamientos a aplicar

Los Tratamientos evaluados resultaron de las combinaciones de factores en estudio que se puede visualizar en la siguiente tabla:

Tabla 5. Tratamientos de los glucosinolatos para *P. infestans*

| Nº | Símbolo | Extracto vegetal | Dosis | Enfermedad |
|----|---------|------------------|-------|-------------------------------|
| 1 | E1C1 | Brócoli | 1% | <i>Phytophthora infestans</i> |
| 2 | E1C2 | Brócoli | 2% | <i>Phytophthora infestans</i> |
| 3 | E1C3 | Brócoli | 3% | <i>Phytophthora infestans</i> |
| 4 | E2C1 | Col de Bruselas | 1% | <i>Phytophthora infestans</i> |
| 5 | E2C2 | Col de Bruselas | 2% | <i>Phytophthora infestans</i> |
| 6 | E2C3 | Col de Bruselas | 3% | <i>Phytophthora infestans</i> |
| 7 | Testigo | - | 0% | <i>Phytophthora infestans</i> |

2.5 Diseño experimental

Para la evaluación se planteó un diseño experimental Completamente al azar (DCA) donde se incluyeron 7 tratamientos, cada uno de los tratamientos con tres repeticiones.

2.6 Variable respuesta

2.6.1 Crecimiento de *P. infestans* en el medio de cultivo

Se tomó discos miceliales de 5 mm de diámetro de cultivos de *Phytophthora infestans* de 5 días de edad con un perforador de punta esterilizado y se colocaron en el centro de cada caja Petri. La posición del disco se marcó en la base de la caja Petri con un rotulador y dos ejes ortogonales, que pasan por el centro del disco, además se marcan para usar como referencias para registrar el crecimiento. Las placas se incubaron a 23 °C durante 216 h. El crecimiento micelial se midió a lo largo de una línea a partir del halo de crecimiento del microorganismo, se registró exactamente a intervalos de 24 h usando una regla. Cada tratamiento se replicó tres veces.

2.6.2 Determinación de porcentaje de inhibición

Para determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Phytophthora infestans*, se determinó mediante la siguiente fórmula de (Viñuela y Jacas 1993).

$$\% \text{ inhibición} = \frac{(DCC - DCT)}{DCC} * 100$$

Donde:

DCC: Diámetro de la colonia control

DCT: Diámetro de la colonia tratada

Y que llevando a cabo la formula con el ensayo realizado sería:

DCC: Diámetro de la caja de Petri testigo

DCT: Diámetro de la caja de Petri con tratamiento

2.7 Manejo del experimento

2.7.1 Preparación de extracto de plantas

Se recogió hojas de brócoli sanas y jóvenes (*Brassica oleracea* var. Italica) y hojas de coles de Bruselas (*Brassica oleracea* var. gemmifera), estas se secaron en una estufa a una temperatura de 50°C hasta que se secaron completamente aproximadamente 5 horas, después se trituraron en un molino.

En un matraz de vidrio previamente esterilizado se pesó 100g de muestra seca y molida de las tres plantas al que se añadió 300ml de etanol al 50%. Se dejó macerar por 48 horas, posterior a esto se extrajo el solvente utilizando el método de arrastre de vapor y se prepararon las soluciones en diferentes concentraciones.

2.8 Reproducción de *P. infestans*

Para el cultivo de *Phytophthora infestans* se preparó el medio de cultivo en un matraz con 250 ml de agua destilada y 10g de agar papa dextrosa (APD) y se colocó en el autoclave por 2 horas, luego se dejó enfriar.

Para evitar contaminación del medio de cultivo, se aplicó un antibiótico, 2 g de penicilina en los 250 ml del medio. En la cámara de flujo laminar, se dispensó el medio en 10 cajas Petri de 25 ml y se dejó reposar por una hora hasta conseguir la consistencia gelatinosa y se procedió a sembrar las cepas de *P. infestans*, en diez cajas de Petri *Phytophthora infestans*. Los medios con *P. infestans* fueron conservados a 23° C por 5 días.

2.9 Siembra de *P. infestans*

Se preparó un medio de Agar harina de maíz (HMA), para la preparación de este medio se pesaron 47 g de harina de maíz amarillo y se disolvió en 500 ml de agua destilada, continuamente se calentó a 60°C mientras se agitaba la preparación en un periodo

aproximado de 1 hora, luego se filtró a través de una gasa y se completó el volumen a 1.000 ml con agua destilada, se incorporó 17 gr de Agar-Agar y se calentó hasta que se disolvió, se colocó en la autoclave a 121 ° C por 15 minutos y se enfrió a 45 ° C por 20 minutos. Posteriormente, se añadió cantidades apropiadas de solución madre de cada extracto y agua destilada al medio HMA para obtener concentraciones del 10%, 20 % y 30% (p / v) de los extractos en el medio (Tabla 6). Los extractos de plantas se mezclaron completamente con el medio luego de haber pasado por filtros de jeringa esteriles. Se vertió veinte mililitros de cada medio en cada una de las cajas de Petri esterilizadas de 90 mm de diámetro y se dejó solidificar por una hora. Seguidamente con una punta plástica, se realizó una perforación en el centro de la caja de Petri para ser rellena con *Phytophthora infestans* de acuerdo con los tratamientos establecidos.

Tabla 6 Concentraciones para preparar los medios de cultivo.

| | DOSIS | | | |
|----------------------------|--------------|------------|------------|------------|
| | 0% | 10% | 20% | 30% |
| Agar | 100ml | 90ml | 80ml | 70ml |
| Extractos vegetales | 0ml | 10ml | 20ml | 30ml |

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1. Análisis y discusión de resultados

3.1.2 Crecimiento micelial de *Phytophthora infestans*

En Tabla 7 se presenta La prueba de Tukey que al 5% para la variable crecimiento micelial de *Phytophthora infestans* en el medio Agar harina de Maíz (HMA) a las 216 horas después iniciar el ensayo en donde se puede apreciar que el tratamiento E2C3 (glucosinolatos de col de Bruselas 30%) presentó un crecimiento del micelio de 12,33 mm ubicándose en primer lugar de la prueba de Tukey (rango a), los tratamientos E2C1 y E2C2 (Col de Bruselas al 10 y 20%) se ubican en el segundo lugar de la prueba (rango ab) con promedios de crecimiento de 12,78 y 13,44 mm respectivamente. Al analizar los glucosinolatos de brócoli el tratamiento E1C1 (brocoli al 10%) presenta un crecimiento micelial de 15,11 mm (rango abc) seguido del tratamiento E1C3 (brócoli al 30%) con 15,65 mm (rango bc), mientras que le testigo presenta un crecimiento micelial de 65,55 mm ubicándose en el último lugar de la prueba de Tukey (rango d).

Posiblemente estos resultados se deben a que los glucosinolatos son metabolitos secundarios que se encuentran en los tejidos de las Brassicáceas y portan propiedades defensivas de la planta contra distintas plagas por ende de igual manera tiene propiedades antifúngicas, resultados similares alcanzó (Ashiq et al 2022) donde según el estudio, los discos de hojas de Brassica juncea recolectados durante la etapa de crecimiento del tallo mostraron un 94% de inhibición del crecimiento de *F. graminearum* cuando se utilizaron 8 discos en el experimento. Además, en un ensayo en frascos cerrados, todas las especies de Brassica evaluadas suprimieron significativamente el inóculo del hongo en un rango de 41% a 55% en comparación con el control. Los investigadores concluyeron que el material vegetal de brassicas aplicado en etapas específicas de desarrollo contiene compuestos bioactivos que pueden inhibir eficazmente el crecimiento de este fitopatógeno, lo que demuestra su potencial uso como agente.

Tabla 7. Crecimiento micelial de *Phytophthora infestans* analizado con distintas concentraciones de glucosinolatos

| | | 48 | 72 | 96 | 120 | 144 | 168 | 192 | 216 |
|--------------------|----------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| TRATAMIENTO | CONCENTRACIÓN | HORAS | HORAS | HORAS | HORAS | HORAS | HORAS | HORAS | HORAS |
| E1C1 | 10% | 6,44 ab | 8,22 abc | 8,22 a | 10 ab | 12,11 ab | 13,33 ab | 14,11 ab | 15,11 abc |
| E1C2 | 20% | 8ab | 9,33 bc | 10,44 a | 13,78 c | 14 b | 15 b | 16,06 b | 17,33 c |
| E1C3 | 30% | 6a | 10,89 c | 10,67 a | 12,22 bc | 13 b | 14 ab | 14,89 b | 15,56 bc |
| E2C1 | 10% | 6,45 ab | 6,67 ab | 6,59 a | 8,67 a | 9,44 a | 10,45 a | 11,33 a | 12,78 ab |
| E2C2 | 20% | 6a | 6,11 a | 9,0 a | 10,11 ab | 11,33 ab | 11,55 ab | 12,78 ab | 13,44 ab |
| E2C3 | 30% | 7,11 ab | 7,11 ab | 8,45 a | 9,89 ab | 10,67 ab | 10,89 a | 11,11 a | 12,33 a |
| TESTIGO | | 8,89 b | 17,11 d | 26,22 b | 37,89 d | 46,47 c | 56,44 c | 63,44 c | 65,55 d |

Medias con letras diferentes entre filas difiere significativamente ($p < 0,05$)

3.1.3 Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Phytophthora infestans*

En la tabla 8 se presenta la prueba de Tukey que al 5% para la variable de inhibición de *Phytophthora infestans* en el medio (HMA) a las 216 horas después de iniciar el ensayo donde se puede observar que el tratamiento E2C3 (glucosinolatos de col de Bruselas 30%) presentó una inhibición de 81,19% ubicándose en el primer lugar de la prueba de Tukey (rango a), los tratamientos E2C1 y E2C2 (Col de Bruselas al 10 y 20%) se ubican en el segundo lugar de la prueba (rango ab) con promedios de inhibición de 80,51 y 79,49 % respectivamente. Al analizar los glucosinolatos de brócoli el tratamiento E1C1 (Brócoli al 10%) presenta una inhibición de 76,95% (rango abc) seguido del tratamiento E1C3 (brócoli al 30%) con 76,27% (rango bc), mientras que el testigo presenta una inhibición de 0% ubicándose en el último lugar de la prueba de Tukey (rango d).

Probablemente estos resultados se dieron porque los glucosinolatos tienen propiedades antifúngicas y tienen propiedades defensivas de la planta para enfrentarse a plagas, resultados que casi coinciden con Waisen et al. (2020) que un estudio reciente investigó el uso de varias especies de plantas de la familia *Brassicaceae*, incluyendo arúgula, rábano, repollo y mostaza, para controlar el nematodo *Meloidogyne spp.* a través de la biofumigación. Los investigadores enterraron hojas y tallos de estas plantas en el suelo infestado con el nemátodo. Los resultados mostraron que las poblaciones del nematodo se redujeron en más del 80% en comparación con el suelo no tratado. Esto demuestra que el uso de residuos vegetales de brassicas como *E. sativa*, *R. sativus*, *B. oleracea* y *B. juncea* puede ser una estrategia efectiva de manejo ecológico para controlar infestaciones de *Meloidogyne spp.* sin necesidad de aplicar nematicidas sintéticos.

Los glucosinolatos que se obtuvieron del brócoli también tuvieron resultados positivos sin embargo no como la col de Bruselas que consiguieron un porcentaje mayor de inhibición contra el hongo *Phytophthora infestans*.

Tabla 8. Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Phytophthora infestans* analizado con distintas concentraciones de glucosinolatos

| | | 48 | 72 | 96 | 120 | 144 | 168 | 192 | 216 |
|--------------------|----------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| TRATAMIENTO | CONCENTRACIÓN | HORAS | HORAS | HORAS | HORAS | HORAS | HORAS | HORAS | HORAS |
| E1C1 | 10% | 25,7 a | 51,85 abc | 68,64 a | 73,6 ab | 73,99 abc | 16,36 abc | 77,76 ab | 76,95 abc |
| E1C2 | 20% | 9,72 a | 45,63 bc | 59,73 a | 63,61 c | 69,96 c | 73,4 c | 74,69 b | 73,56 c |
| E1C3 | 30% | 31,3 a | 36,69 c | 59,49 a | 67,56 bc | 72,22 bc | 75,21 bc | 76,53 b | 76,27 bc |
| E2C1 | 10% | 26,4 a | 60,84 ab | 73,46 a | 77,09 a | 72,74 a | 81,49 a | 82,14 a | 80,51 ab |
| E2C2 | 20% | 30,6 a | 64,11 a | 65,08 a | 73,26 ab | 75,69 abc | 79,53 abc | 79,86 ab | 79,49 ab |
| E2C3 | 30% | 18,8 a | 58,17 ab | 67,59 a | 73,89 ab | 77,16 ab | 80,73 ab | 82,49 a | 81,19 a |
| TESTIGO | | 0 a | 0 d | 0 b | 0 d | 0 d | 0 d | 0 c | 0 d |

abcd. Medias con letras diferentes entre filas difiere significativamente ($p < 0,05$)

3.2. Verificación de hipótesis

Se acepta la hipótesis (Ha) ya que la utilización de glucosinolatos inhibe el crecimiento micelial de *Phytophthora infestans* de Bary *in vitro*.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

1.- La concentración de glucosinolatos que tuvo el mejor efecto inhibitorio para (*Phytophthora infestans*) fue los glucosinolatos de col de Bruselas al 30% ya que tuvo una inhibición del 81,19% y un crecimiento micelial de 12,33mm. Esto se debe a la cantidad de glucosinolatos que se obtienen de la col de Bruselas siendo más eficientes que los del brócoli.

2.- El glucosinato de col de Bruselas al 30% de concentración presentó un menor crecimiento micelial a las 216 horas con 12,33mm, mientras que el glucosinato de brócoli al 10% presento un crecimiento de 15,11 mm en comparación con el testigo que se crecimiento micelial fue de 65,55 mm.

4.2 RECOMENDACIONES

En base al ensayo realizado se puede recomendar utilizar los glucosinolatos extraídos por destilación de arrastre de vapor inmediatamente ya que al dejarlo una o dos semanas pierde sus propiedades.

Guardar los glucosinolatos en un frasco ámbar para evitar la degradación por los rayos solares.

Evaluar el efecto de los glucosinolatos en un cultivo establecido de papa para el control de *Phytophthora infestans* bajo invernadero para poder visualizar los resultados que tiene con bajo condiciones controladas ya que este ensayo se realizó *in vitro* y solo se obtuvo resultados en base a eso.

MATERIALES DE REFERENCIA

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baenas, N., Moreno, D. y García-Viguera, C. (2017). Estudio de la bioactividad in vitro e in vivo de brotes de brócoli ricos en glucosinolatos/isotiocianatos. *Revista Iberoamericana Interdisciplinar de Métodos, Modelización y Simulación*, 10, 69-78.
- Basantes, T., Aragón, J., Albuja, L., y Vázquez, L. (2020). Diagnóstico de los costos, rendimientos de producción y comercialización de papa (*Solanum tuberosum* L.) en la Zona 1 del Ecuador, año 2019. *Revista e-Agronegocios*, 6(2). <https://doi.org/10.18845/ea.v6i2.5103>
- Berhan, M. (2021). Review on epidemiology, sampling techniques, management strategies of late blight (*Phytophthora infestans*) of potato and its yield loss. *Asian Journal of Advances in Research*, 9-17.
- Carranza, G., Arequipa, A. & Álvarez, C. (2019). Evaluación de bio-insumos contra el tizón tardío (*Phytophthora infestans*) de la papa. *In Anales científicos*, 80(1), 132-137.
- García, H., Marín, M., Jaramillo, S. y Cotes, J. (2008). Sensibilidad de aislamientos colombianos de *Phytophthora infestans* a cuatro fungicidas sistémicos. *Agronomía Colombiana*, 26 (1), 47-57
- González-Tobón, J., Childers, R., Olave, C., Regnier, M., Rodríguez-Jaramillo, A., Fry, W., Restrepo, S. y Danies, G. (2019). Is the Phenomenon of Mefenoxam-Acquired Resistance in *Phytophthora infestans* Universal? *Plant Dis.*, 104, 211–221.
- Halkier, B. A., & Gershenzon, J. (2006). BIOLOGY AND BIOCHEMISTRY OF GLUCOSINOLATES. *Annual Review of Plant Biology*, 57(1), 303–333.
- Haverkort, A., Struik, P., Visser, R. y Jacobsen, E. (2009). Applied biotechnology to combat late blight in potato caused by *Phytophthora infestans*. *Potato Res.*, 52, 249–264.

- Hiruma, K. (2019). Roles of Plant-Derived Secondary Metabolites during Interactions with Pathogenic and Beneficial Microbes under Conditions of Environmental Stress. *Microorganisms*, 7(9): 362. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090362>
- Ilahy R, Tlili I, Pék Z, Montefusco A, Siddiqui MW, Homa F, Hdider C, R'Him T, Lajos H and Lenucci MS. (2020). Pre- and Post-harvest Factors Affecting Glucosinolate Content in Broccoli. *Front. Nutr.* 7, 147. doi: 10.3389/fnut.2020.00147
- INIA. (2019). Tecnologías de manejo de la ranca o tizón tardío de la papa *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary.
- INIAP. (2021). Manual del cultivo de papa para pequeños productores. <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5672>
- Ivanov, A., Ukladov, E. y Golubeva, T. (2021) *Phytophthora infestans*: An Overview of Methods and Attempts to Combat Late Blight. *Journal of Fungi*, 7(12):1071. <https://doi.org/10.3390/jof7121071>
- Jerez, E. y Martín, R. (2012). Comportamiento del crecimiento y el rendimiento de la variedad de papa (*Solanum tuberosum* L.) Spunta. *Cultivos Tropicales*, 33(4), 53-58. <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v33n4/ctr07412.pdf>
- Leesutthiphonchai, W., Vu, AL, Ah-Fong, AM & Judelson, HS. (2018). How Does *Phytophthora infestans* Evade Control Efforts? Modern Insight Into the Late Blight Disease. *Phytopathology*, 108 (8), 916-924.
- Martínez, E. y Osorio, J. (2007). Estudios preliminares para la producción de un biosurfactante bacteriano activo contra *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary Corpoica. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 8, (2), 5-16.
- Martínez, J., De Ancos, B., Sánchez, C. y Cano, M. (2017). Efecto protector del procesado mínimo sobre los compuestos bioactivos y actividad antioxidante del brócoli (*Brassica oleracea* L. var *italica*) durante la conservación frigorífica y ruptura de la cadena de frío.

- Majeed, A., Muhammad, Z., Ullah, Z., Ullah, R., & Ahmad, H. (2017). Late Blight of Potato (*Phytophthora infestans*) I: Fungicides Application and Associated Challenges. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 5(3), 261–266. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v5i3.261-266.1038>
- Mitreiter, S. & Gigolashvili, T. (2021). Regulation of glucosinolate biosynthesis, *Journal of Experimental Botany*, 72(1), 70–91.
- Moreno, D. y García-Viguera, C. (2008). El brócoli fuente de ingredientes funcionales: glucosinolatos. *ALIM. NUTRI. SALUD*, 15 (2), 49-53.
- Noé, M. (2020). FERTILIZACIÓN FOLIAR CON EXTRACTOS DE ALGAS MARINAS EN EL RENDIMIENTO Y CALIDAD DE BRÓCOLI (*Brassica oleracea* L. var. Italica cv. 'Paraíso' (Tesis de Pregrado). UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA.
- Omar, S. J. (2017). EFFECT OF DIFFERENT MANURES ON THE GROWTH, YIELD AND QUALITY OF TWO BRUSSELS SPROUTS (*Brassica oleracea* var. gemmifera L.) HYBRIDS. *Euphrates Journal of Agriculture Science*, 9(4 عدد-2 ملحق). (4 عدد-2 ملحق).
- Ramos, N. (2021). EFECTO DE TRES BIOINSUMOS EN EL RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE COL DE BRUSELAS (*Brassica oleracea* L.var.gemmifera) EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL CHOQUENAIRA (Tesis de pregrado). UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS.
- Roy, S. y Grünwald, N. (2014). The plant destroyer genus *Phytophthora* in the 21st century. *Rev. Plant Pathol.* 6, 388-412.
- Pacilly, F., Groot, J., Hofstede, G., Schaap, B. y van Bueren, E. (2016). Analysing potato late blight control as a social-ecological system using fuzzy cognitive mapping. *Agron. Sustain. Dev*, 36, 35.
- Sahair, A., Sneha, S., Raghu, N., Gopenath, T., Murugesan, K., Gnanasekaran, A., Chandrashekrappa, G. & Basalingappa, K. (2018). *Solanum tuberosum* L: Botanical, Phytochemical, pharmacological and Nutritional significance. *Int. J. Phytomed*, 10(3), 115-124.

- Soto et al., (2017). Protocolos de aislamiento y diagnóstico de *Phytophthora spp.* enfoque aplicado a la investigación. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8 (8), 1867-1880.
- Soy Fry, (2008). *Phytophthora infestans*: la planta (yRgen) destructor. *PATOLOGÍA MOLECULAR DE LAS PLANTAS*, 9(3), 385–402.
- Touw, A. J., Verdecia Mogená, A., Maedicke, A., Sontowski, R., Van Dam, N. M., & Tsunoda, T. (2020). Both biosynthesis and transport are involved in glucosinolate accumulation during root-herbivory in *Brassica rapa*. *Frontiers in plant science*, 10, 1653.
- Vázquez-González, C., Mejía-Garibay, B., Robles-López, M. y Ramírez-López, C. (2020). Impacto de las tecnologías de procesamiento del brócoli sobre compuestos fitoquímicos relevantes en salud humana: una revisión. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 21, (2).
- Velasco, P., Abdlmotalb, N., Tortosa, M., Mollers, C., Ciruelos, A., de Haro, A., Johansen, T., McAlvay, A., Pires, C. y Rodríguez, V. (2018). Evaluación metabolómica de una selección divergente de berza (*Brassica oleracea* var. acephala) para glucosinolatos en diferentes condiciones ambientales. *CULTIVOS HORTÍCOLAS*.
- Vignola, R., Watler, W., Vargas, A. y Morales, M. (2017). Prácticas efectivas para la reducción de impactos por eventos climáticos en el cultivo de papa en Costa Rica. CATIE. <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F01-8214.pdf>
- Wang, J., Barba, F. J., Sørensen, J. C., Frandsen, H. B., Sørensen, S., Olsen, K., & Orlien, V. (2018). High pressure effects on myrosinase activity and glucosinolate preservation in seedlings of Brussels sprouts. *Food Chemistry*, 245, 1212–1217.
- Westphal, A., Riedl, K. M., Cooperstone, J. L., Kamat, S., Balasubramaniam, V. M., Schwartz, S. J., & Böhm, V. (2017). High-Pressure Processing of Broccoli Sprouts: Influence on Bioactivation of Glucosinolates to Isothiocyanates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(39), 8578–8585. doi:10.1021/acs.jafc.7b01380

Anexos

Anexo 1. Análisis estadístico

Anexo 1.1. Análisis estadístico de crecimiento micelial de *P. infestans*

Análisis de la varianza

DIA 2 o 48 horas

| Variable | N | R ² | R ² Aj | CV |
|----------|----|----------------|-------------------|-------|
| DIA 2 | 21 | 0,65 | 0,49 | 13,18 |

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V. | SC | gl | CM | F |
|------------------------|-------|----|-------|---------|
| TRATAMIENTO | 21,58 | 6 | 3,60 | 4,24* |
| EXTRACTO | 0,39 | 1 | 0,39 | 0,45NS |
| CONCENTRACIÓN | 1,03 | 2 | 0,51 | 0,60NS |
| EXTRACTO*CONCENTRACIÓN | 7,44 | 2 | 3,72 | 4,37* |
| T VS RESTO | 12,72 | 1 | 12,72 | 15,00** |
| Error | 11,87 | 14 | 0,85 | |
| Total | 33,44 | 20 | | |

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,56697

Error: 0,8477 gl: 14

| TRATAMIENTO | Medias | n | E.E. | |
|-------------|--------|---|------|-----|
| E1C3 | 6,00 | 3 | 0,53 | A |
| E2C2 | 6,00 | 3 | 0,53 | A |
| E1C1 | 6,44 | 3 | 0,53 | A B |
| E2C1 | 6,45 | 3 | 0,53 | A B |
| E2C3 | 7,11 | 3 | 0,53 | A B |
| E1C2 | 8,00 | 3 | 0,53 | A B |
| TESTIGO | 8,89 | 3 | 0,53 | B |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,79091

Error: 0,5930 gl: 12

| EXTRACTO | Medias | n | E.E. | |
|----------|--------|---|------|---|
| E2 | 6,52 | 9 | 0,26 | A |
| E1 | 6,81 | 9 | 0,26 | A |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,18609

Error: 0,5930 gl: 12

| CONCENTRACIÓN | Medias | n | E.E. | |
|---------------|--------|---|------|---|
| C1 | 6,45 | 6 | 0,31 | A |
| C3 | 6,56 | 6 | 0,31 | A |
| C2 | 7,00 | 6 | 0,31 | A |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,11188

Error: 0,5930 gl: 12

| EXTRACTO | CONCENTRACIÓN | Medias | n | E.E. | |
|----------|---------------|--------|---|------|---|
| E2 | C2 | 6,00 | 3 | 0,44 | A |
| E1 | C3 | 6,00 | 3 | 0,44 | A |
| E1 | C1 | 6,44 | 3 | 0,44 | A |
| E2 | C1 | 6,45 | 3 | 0,44 | A |
| E2 | C3 | 7,11 | 3 | 0,44 | A |

| | | | | | |
|----|----|------|---|------|---|
| E1 | C2 | 8,00 | 3 | 0,44 | A |
|----|----|------|---|------|---|

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

DIA 3 o 72 horas

| | | | | |
|----------|----|----------------|-------------------|-------|
| Variable | N | R ² | R ² Aj | CV |
| DIA 3 | 21 | 0,94 | 0,91 | 11,88 |

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|---------------|--------|----|--------|--------|---------|
| Modelo | 259,68 | 6 | 43,28 | 35,10 | <0,0001 |
| TRATAMIENTO | 259,68 | 6 | 43,28 | 35,10 | <0,0001 |
| EXTRACTO | 36,61 | 1 | 36,61 | 28,92 | 0,0002 |
| CONCENTRACIÓN | 8,28 | 2 | 4,14 | 3,27 | 0,0735 |
| EXTRACTO*CONC | 4,01 | 2 | 2,00 | 1,58 | 0,2455 |
| T vs RES | 210,79 | 1 | 210,79 | 170,97 | <0,0001 |
| Error | 17,26 | 14 | 1,23 | | |
| Total | 276,94 | 20 | | | |

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,09571

Error: 1,2329 gl: 14

| TRATAMIENTO | Medias | n | E.E. | |
|-------------|--------|---|------|-------|
| E2C2 | 6,11 | 3 | 0,64 | A |
| E2C1 | 6,67 | 3 | 0,64 | A B |
| E2C3 | 7,11 | 3 | 0,64 | A B |
| E1C1 | 8,22 | 3 | 0,64 | A B C |
| E1C2 | 9,33 | 3 | 0,64 | B C |
| E1C3 | 10,89 | 3 | 0,64 | C |
| TESTIGO | 17,11 | 3 | 0,64 | D |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,15552

Error: 1,2657 gl: 12

| EXTRACTO | Medias | n | E.E. | |
|----------|--------|---|------|---|
| E2 | 6,63 | 9 | 0,38 | A |
| E1 | 9,48 | 9 | 0,38 | B |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,73287

Error: 1,2657 gl: 12

| CONCENTRACIÓN | Medias | n | E.E. | |
|---------------|--------|---|------|---|
| C1 | 7,45 | 6 | 0,46 | A |
| C2 | 7,72 | 6 | 0,46 | A |
| C3 | 9,00 | 6 | 0,46 | A |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,08544

Error: 1,2657 gl: 12

| EXTRACTO | CONCENTRACIÓN | Medias | n | E.E. | |
|----------|---------------|--------|---|------|-------|
| E2 | C2 | 6,11 | 3 | 0,65 | A |
| E2 | C1 | 6,67 | 3 | 0,65 | A B |
| E2 | C3 | 7,11 | 3 | 0,65 | A B |
| E1 | C1 | 8,22 | 3 | 0,65 | A B C |
| E1 | C2 | 9,33 | 3 | 0,65 | B C |
| E1 | C3 | 10,89 | 3 | 0,65 | C |

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

DIA 4 o 96 horas

| Variable | N | R ² | R ² Aj | CV |
|----------|----|----------------|-------------------|-------|
| DIA 4 | 21 | 0,96 | 0,94 | 13,33 |

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|---------------|--------|----|--------|--------|---------|
| TRATAMIENTO | 797,99 | 6 | 133,00 | 57,51 | <0,0001 |
| EXTRACTO | 12,48 | 1 | 12,48 | 7,63 | 0,0172 |
| CONCENTRACIÓ | 17,43 | 2 | 8,71 | 5,33 | 0,0221 |
| EXTRACTO*CONC | 0,70 | 2 | 0,35 | 0,21 | 0,8102 |
| T VS RES | 767,38 | 1 | 767,38 | 331,80 | <0,0001 |
| Error | 32,38 | 14 | 2,31 | | |
| Total | 830,37 | 20 | | | |

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,23992

Error: 2,3128 gl: 14

| TRATAMIENTO | Medias | n | E.E. | |
|-------------|--------|---|------|---|
| E2C1 | 6,89 | 3 | 0,88 | A |
| E1C1 | 8,22 | 3 | 0,88 | A |
| E2C3 | 8,45 | 3 | 0,88 | A |
| E2C2 | 9,00 | 3 | 0,88 | A |
| E1C2 | 10,44 | 3 | 0,88 | A |
| E1C3 | 10,67 | 3 | 0,88 | A |
| TESTIGO | 26,22 | 3 | 0,88 | B |

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,31353

Error: 1,6355 gl: 12

| EXTRACTO | Medias | n | E.E. | |
|----------|--------|---|------|---|
| E2 | 8,11 | 9 | 0,43 | A |
| E1 | 9,78 | 9 | 0,43 | B |

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,96983

Error: 1,6355 gl: 12

| CONCENTRACIÓN | Medias | n | E.E. | |
|---------------|--------|---|------|---|
| C1 | 7,56 | 6 | 0,52 | A |
| C3 | 9,56 | 6 | 0,52 | B |
| C2 | 9,72 | 6 | 0,52 | B |

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,50736

Error: 1,6355 gl: 12

| EXTRACTO | CONCENTRACIÓN | Medias | n | E.E. | |
|----------|---------------|--------|---|------|-----|
| E2 | C1 | 6,89 | 3 | 0,74 | A |
| E1 | C1 | 8,22 | 3 | 0,74 | A B |
| E2 | C3 | 8,45 | 3 | 0,74 | A B |
| E2 | C2 | 9,00 | 3 | 0,74 | A B |
| E1 | C2 | 10,44 | 3 | 0,74 | B |
| E1 | C3 | 10,67 | 3 | 0,74 | B |

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

DIA 5 o 120 horas

| Variable | N | R ² | R ² Aj | CV |
|----------|----|----------------|-------------------|------|
| DIA 5 | 21 | 0,99 | 0,98 | 8,59 |

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|---------------|---------|----|---------|---------|---------|
| TRATAMIENTO | 1942,11 | 6 | 323,69 | 204,30 | <0,0001 |
| EXTRACTO | 26,84 | 1 | 26,84 | 20,88 | 0,0006 |
| CONCENTRACI | 21,13 | 2 | 10,57 | 8,22 | 0,0056 |
| EXTRACTO*CONC | 4,11 | 2 | 2,06 | 1,60 | 0,2424 |
| T VS RES | 1890,03 | 1 | 1890,03 | 1192,94 | <0,0001 |
| Error | 22,18 | 14 | 1,58 | | |
| Total | 1964,29 | 20 | | | |

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,50927

Error: 1,5843 gl: 14

TRATAMIENTO Medias n E.E.

| | | | | |
|---------|-------|---|------|-----|
| E2C1 | 8,67 | 3 | 0,73 | A |
| E2C3 | 9,89 | 3 | 0,73 | A B |
| E1C1 | 10,00 | 3 | 0,73 | A B |
| E2C2 | 10,11 | 3 | 0,73 | A B |
| E1C3 | 12,22 | 3 | 0,73 | B C |
| E1C2 | 13,78 | 3 | 0,73 | C |
| TESTIGO | 37,89 | 3 | 0,73 | D |

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,16461

Error: 1,2857 gl: 12

EXTRACTO Medias n E.E.

| | | | | |
|----|-------|---|------|---|
| E2 | 9,56 | 9 | 0,38 | A |
| E1 | 12,00 | 9 | 0,38 | B |

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,74651

Error: 1,2857 gl: 12

CONCENTRACIÓN Medias n E.E.

| | | | | |
|----|-------|---|------|-----|
| C1 | 9,34 | 6 | 0,46 | A |
| C3 | 11,06 | 6 | 0,46 | A B |
| C2 | 11,95 | 6 | 0,46 | B |

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,10972

Error: 1,2857 gl: 12

EXTRACTO CONCENTRACIÓN Medias n E.E.

| | | | | | |
|----|----|-------|---|------|-----|
| E2 | C1 | 8,67 | 3 | 0,65 | A |
| E2 | C3 | 9,89 | 3 | 0,65 | A B |
| E1 | C1 | 10,00 | 3 | 0,65 | A B |
| E2 | C2 | 10,11 | 3 | 0,65 | A B |
| E1 | C3 | 12,22 | 3 | 0,65 | B C |
| E1 | C2 | 13,78 | 3 | 0,65 | C |

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

DIA 6 o 144 horas

| Variable | N | R ² | R ² | Aj | CV |
|----------|----|----------------|----------------|------|----|
| DIA 6 | 21 | 0,99 | 0,99 | 7,51 | |

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|---------------|---------|----|---------|---------|---------|
| TRATAMIENTO | 3173,60 | 6 | 528,93 | 334,35 | <0,0001 |
| EXTRACTO | 29,41 | 1 | 29,41 | 18,99 | 0,0009 |
| CONCENTRACI | 10,75 | 2 | 5,37 | 3,47 | 0,0647 |
| EXTRACTO*CONC | 0,11 | 2 | 0,06 | 0,04 | 0,9645 |
| T VS RES | 3133,32 | 1 | 3133,32 | 1980,65 | <0,0001 |

| | | | |
|-------|---------|----|------|
| Error | 22,15 | 14 | 1,58 |
| Total | 3195,74 | 20 | |

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,50664

Error: 1,5820 gl: 14

| TRATAMIENTO | Medias | n | E.E. | |
|-------------|--------|---|------|-----|
| E2C1 | 9,44 | 3 | 0,73 | A |
| E2C3 | 10,67 | 3 | 0,73 | A B |
| E2C2 | 11,33 | 3 | 0,73 | A B |
| E1C1 | 12,11 | 3 | 0,73 | A B |
| E1C3 | 13,00 | 3 | 0,73 | B |
| E1C2 | 14,00 | 3 | 0,73 | B |
| TESTIGO | 46,67 | 3 | 0,73 | C |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,27815

Error: 1,5486 gl: 12

| EXTRACTO | Medias | n | E.E. | |
|----------|--------|---|------|---|
| E2 | 10,48 | 9 | 0,41 | A |
| E1 | 13,04 | 9 | 0,41 | B |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,91677

Error: 1,5486 gl: 12

| CONCENTRACIÓN | Medias | n | E.E. | |
|---------------|--------|---|------|---|
| C1 | 10,78 | 6 | 0,51 | A |
| C3 | 11,83 | 6 | 0,51 | A |
| C2 | 12,67 | 6 | 0,51 | A |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,41289

Error: 1,5486 gl: 12

| EXTRACTO | CONCENTRACIÓN | Medias | n | E.E. | |
|----------|---------------|--------|---|------|-----|
| E2 | C1 | 9,44 | 3 | 0,72 | A |
| E2 | C3 | 10,67 | 3 | 0,72 | A B |
| E2 | C2 | 11,33 | 3 | 0,72 | A B |
| E1 | C1 | 12,11 | 3 | 0,72 | A B |
| E1 | C3 | 13,00 | 3 | 0,72 | B |
| E1 | C2 | 14,00 | 3 | 0,72 | B |

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

DIA 7 168 horas

| Variable | N | R ² | R ² | Aj | CV |
|----------|----|----------------|----------------|------|----|
| DIA 7 | 21 | 1,00 | 0,99 | 7,04 | |

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|---------------|---------|----|---------|---------|---------|
| TRATAMIENTO | 5007,73 | 6 | 834,62 | 475,56 | <0,0001 |
| EXTRACTO | 44,59 | 1 | 44,59 | 23,79 | 0,0004 |
| CONCENTRAC | 5,85 | 2 | 2,92 | 1,56 | 0,2501 |
| EXTRACTO*CONC | 0,24 | 2 | 0,12 | 0,06 | 0,9387 |
| T VS RES | 4957,06 | 1 | 4957,06 | 2824,48 | <0,0001 |
| Error | 24,57 | 14 | 1,76 | | |
| Total | 5032,30 | 20 | | | |

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,69347

Error: 1,7550 gl: 14

| TRATAMIENTO | Medias | n | E.E. | |
|-------------|--------|---|------|-----|
| E2C1 | 10,45 | 3 | 0,76 | A |
| E2C3 | 10,89 | 3 | 0,76 | A |
| E2C2 | 11,55 | 3 | 0,76 | A B |
| E1C1 | 13,33 | 3 | 0,76 | A B |
| E1C3 | 14,00 | 3 | 0,76 | A B |
| E1C2 | 15,00 | 3 | 0,76 | B |
| TESTIGO | 56,44 | 3 | 0,76 | C |

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,40621

Error: 1,8744 gl: 12

| EXTRACTO | Medias | n | E.E. | |
|----------|--------|---|------|---|
| E2 | 10,96 | 9 | 0,46 | A |
| E1 | 14,11 | 9 | 0,46 | B |

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,10882

Error: 1,8744 gl: 12

| CONCENTRACIÓN | Medias | n | E.E. | |
|---------------|--------|---|------|---|
| C1 | 11,89 | 6 | 0,56 | A |
| C3 | 12,45 | 6 | 0,56 | A |
| C2 | 13,28 | 6 | 0,56 | A |

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,75484

Error: 1,8744 gl: 12

| EXTRACTO | CONCENTRACIÓN | Medias | n | E.E. | |
|----------|---------------|--------|---|------|-----|
| E2 | C1 | 10,45 | 3 | 0,79 | A |
| E2 | C3 | 10,89 | 3 | 0,79 | A |
| E2 | C2 | 11,55 | 3 | 0,79 | A B |
| E1 | C1 | 13,33 | 3 | 0,79 | A B |
| E1 | C3 | 14,00 | 3 | 0,79 | A B |
| E1 | C2 | 15,00 | 3 | 0,79 | B |

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

DIA 8 o 192 horas

| Variable | N | R ² | R ² | Aj | CV |
|----------|----|----------------|----------------|------|----|
| DIA 8 | 21 | 1,00 | 1,00 | 5,77 | |

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|--------------|---------|----|---------|---------|---------|
| TRATAMIENTO | 6504,17 | 6 | 1084,03 | 771,55 | <0,0001 |
| EXTRACTO | 48,35 | 1 | 48,35 | 29,61 | 0,0001 |
| CONCENTRACI | 9,92 | 2 | 4,96 | 3,04 | 0,0856 |
| EXTRACTO*CON | 0,75 | 2 | 0,38 | 0,23 | 0,7982 |
| T VS RES | 6445,15 | 1 | 6445,15 | 4587,27 | <0,0001 |
| Error | 19,67 | 14 | 1,41 | | |
| Total | 6523,84 | 20 | | | |

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,30470

Error: 1,4050 gl: 14

| TRATAMIENTO | Medias | n | E.E. | |
|-------------|--------|---|------|-----|
| E2C3 | 11,11 | 3 | 0,68 | A |
| E2C1 | 11,33 | 3 | 0,68 | A |
| E2C2 | 12,78 | 3 | 0,68 | A B |

| | | | | | |
|---------|-------|---|------|---|---|
| E1C1 | 14,11 | 3 | 0,68 | A | B |
| E1C3 | 14,89 | 3 | 0,68 | | B |
| E1C2 | 16,06 | 3 | 0,68 | | B |
| TESTIGO | 63,44 | 3 | 0,68 | | C |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,31242

Error: 1,6328 gl: 12

EXTRACTO Medias n E.E.

| | | | | |
|----|-------|---|------|---|
| E2 | 11,74 | 9 | 0,43 | A |
| E1 | 15,02 | 9 | 0,43 | B |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,96817

Error: 1,6328 gl: 12

CONCENTRACIÓN Medias n E.E.

| | | | | |
|----|-------|---|------|---|
| C1 | 12,72 | 6 | 0,52 | A |
| C3 | 13,00 | 6 | 0,52 | A |
| C2 | 14,42 | 6 | 0,52 | A |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,50441

Error: 1,6328 gl: 12

EXTRACTO CONCENTRACIÓN Medias n E.E.

| | | | | | |
|----|----|-------|---|------|-----|
| E2 | C3 | 11,11 | 3 | 0,74 | A |
| E2 | C1 | 11,33 | 3 | 0,74 | A |
| E2 | C2 | 12,78 | 3 | 0,74 | A B |
| E1 | C1 | 14,11 | 3 | 0,74 | A B |
| E1 | C3 | 14,89 | 3 | 0,74 | B |
| E1 | C2 | 16,06 | 3 | 0,74 | B |

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

DIA 9 o 216 horas

| | | | | | |
|----------|----|----------------|----------------|------|----|
| Variable | N | R ² | R ² | Aj | CV |
| DIA 9 | 21 | 1,00 | 1,00 | 5,18 | |

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|---------------|---------|----|---------|---------|---------|
| TRATAMIENTO | 6776,46 | 6 | 1129,41 | 891,60 | <0,0001 |
| EXTRACTO | 44,59 | 1 | 44,59 | 30,69 | 0,0001 |
| CONCENTRACN | 8,33 | 2 | 4,17 | 2,87 | 0,0960 |
| EXTRACTO*CONC | 1,84 | 2 | 0,92 | 0,63 | 0,5481 |
| T VS RES | 6721,70 | 1 | 6721,70 | 5306,36 | <0,0001 |
| Error | 17,73 | 14 | 1,27 | | |
| Total | 6794,19 | 20 | | | |

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,13786

Error: 1,2667 gl: 14

TRATAMIENTO Medias n E.E.

| | | | | |
|---------|-------|---|------|-------|
| E2C3 | 12,33 | 3 | 0,65 | A |
| E2C1 | 12,78 | 3 | 0,65 | A B |
| E2C2 | 13,44 | 3 | 0,65 | A B |
| E1C1 | 15,11 | 3 | 0,65 | A B C |
| E1C3 | 15,56 | 3 | 0,65 | B C |
| E1C2 | 17,33 | 3 | 0,65 | C |
| TESTIGO | 65,55 | 3 | 0,65 | D |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,23803

Error: 1,4529 gl: 12

EXTRACTO Medias n E.E.

E2 12,85 9 0,40 A

E1 16,00 9 0,40 B

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,85661

Error: 1,4529 gl: 12

CONCENTRACIÓN Medias n E.E.

C1 13,95 6 0,49 A

C3 13,95 6 0,49 A

C2 15,39 6 0,49 A

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,30577

Error: 1,4529 gl: 12

EXTRACTO CONCENTRACIÓN Medias n E.E.

E2 C3 12,33 3 0,70 A

E2 C1 12,78 3 0,70 A

E2 C2 13,44 3 0,70 A

E1 C1 15,11 3 0,70 A B

E1 C3 15,56 3 0,70 A B

E1 C2 17,33 3 0,70 B

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

Anexo 1.2. Análisis estadístico de la inhibición de P infestans

Análisis de la varianza

DIA 2 o 48 horas

| Variable | N | R ² | R ² Aj | CV |
|----------|----|----------------|-------------------|-------|
| DIA 2 | 21 | 0,52 | 0,32 | 62,23 |

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|---------------|---------|----|---------|------|---------|
| TRATAMIENTO | 2453,09 | 6 | 408,85 | 2,55 | 0,0697 |
| EXTRACTO | 40,80 | 1 | 40,80 | 0,22 | 0,6487 |
| CONCENTRACION | 119,14 | 2 | 59,57 | 0,32 | 0,7330 |
| EXTRACTO*CON | 845,55 | 2 | 422,78 | 2,26 | 0,1466 |
| T VS RES | 1447,60 | 1 | 1447,60 | 9,04 | 0,0094 |
| Error | 2242,45 | 14 | 160,18 | | |
| Total | 4695,55 | 20 | | | |

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=35,28501

Error: 160,1753 gl: 14

TRATAMIENTO Medias n E.E.

E1C3 31,25 3 7,31 A

E2C2 30,56 3 7,31 A

E2C1 26,39 3 7,31 A

E1C1 25,69 3 7,31 A

E2C3 18,75 3 7,31 A

E1C2 9,72 3 7,31 A

TESTIGO 0,00 3 7,31 A

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=14,04057

Error: 186,8711 gl: 12

EXTRACTO Medias n E.E.

| | | | | |
|----|-------|---|------|---|
| E2 | 25,23 | 9 | 4,56 | A |
| E1 | 22,22 | 9 | 4,56 | A |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=21,05592

Error: 186,8711 gl: 12

| CONCENTRACIÓN | Medias | n | E.E. |
|---------------|--------|---|--------|
| C1 | 26,04 | 6 | 5,58 A |
| C3 | 25,00 | 6 | 5,58 A |
| C2 | 20,14 | 6 | 5,58 A |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=37,49085

Error: 186,8711 gl: 12

| EXTRACTO | CONCENTRACIÓN | Medias | n | E.E. |
|----------|---------------|--------|---|--------|
| E1 | C3 | 31,25 | 3 | 7,89 A |
| E2 | C2 | 30,56 | 3 | 7,89 A |
| E2 | C1 | 26,39 | 3 | 7,89 A |
| E1 | C1 | 25,69 | 3 | 7,89 A |
| E2 | C3 | 18,75 | 3 | 7,89 A |
| E1 | C2 | 9,72 | 3 | 7,89 A |

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

DIA 3 o 72 horas

| Variable | N | R ² | R ² Aj | CV |
|----------|----|----------------|-------------------|-------|
| DIA 3 | 21 | 0,95 | 0,93 | 12,25 |

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|---------------|---------|----|---------|--------|---------|
| TRATAMIENTO | 8789,91 | 6 | 1464,98 | 47,52 | <0,0001 |
| EXTRACTO | 1197,40 | 1 | 1197,40 | 33,29 | 0,0001 |
| CONCENTRACIÓN | 274,01 | 2 | 137,01 | 3,81 | 0,0524 |
| EXTRACTO*CON | 127,57 | 2 | 63,79 | 1,77 | 0,2115 |
| T VS RES | 7190,92 | 1 | 7190,92 | 233,25 | <0,0001 |
| Error | 431,61 | 14 | 30,83 | | |
| Total | 9221,52 | 20 | | | |

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=15,48011

Error: 30,8293 gl: 14

| TRATAMIENTO | Medias | n | E.E. |
|-------------|--------|---|------------|
| E2C2 | 64,11 | 3 | 3,21 A |
| E2C1 | 60,84 | 3 | 3,21 A B |
| E2C3 | 58,17 | 3 | 3,21 A B |
| E1C1 | 51,85 | 3 | 3,21 A B C |
| E1C2 | 45,63 | 3 | 3,21 B C |
| E1C3 | 36,69 | 3 | 3,21 C |
| TESTIGO | 0,00 | 3 | 3,21 D |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=6,15983

Error: 35,9675 gl: 12

| EXTRACTO | Medias | n | E.E. |
|----------|--------|---|--------|
| E2 | 61,04 | 9 | 2,00 A |
| E1 | 44,73 | 9 | 2,00 B |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=9,23758

Error: 35,9675 gl: 12

| CONCENTRACIÓN | Medias | n | E.E. |
|---------------|--------|---|------|
|---------------|--------|---|------|

| | | | | |
|----|-------|---|------|---|
| C1 | 56,35 | 6 | 2,45 | A |
| C2 | 54,87 | 6 | 2,45 | A |
| C3 | 47,43 | 6 | 2,45 | A |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=16,44785

Error: 35,9675 gl: 12

| EXTRACTO | | CONCENTRACIÓN | | Medias | n | E.E. |
|----------|----|---------------|---|--------|---|------|
| E2 | C2 | 64,11 | 3 | 3,46 | A | |
| E2 | C1 | 60,84 | 3 | 3,46 | A | B |
| E2 | C3 | 58,17 | 3 | 3,46 | A | B |
| E1 | C1 | 51,85 | 3 | 3,46 | A | B C |
| E1 | C2 | 45,63 | 3 | 3,46 | B | C |
| E1 | C3 | 36,69 | 3 | 3,46 | C | |

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

DIA 4 o 96 horas

| Variable | N | R ² | R ² Aj | CV |
|----------|----|----------------|-------------------|-------|
| DIA 4 | 21 | 0,96 | 0,95 | 10,01 |

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|--------------|----------|----|----------|--------|---------|
| TRATAMIENTO | 11527,77 | 6 | 1921,30 | 60,56 | <0,0001 |
| EXTRACTO | 166,77 | 1 | 166,77 | 4,51 | 0,0553 |
| CONCENTRACN | 264,76 | 2 | 132,38 | 3,58 | 0,0605 |
| EXTRACTO*CON | 9,26 | 2 | 4,63 | 0,13 | 0,8835 |
| T VS RES | 11086,97 | 1 | 11086,97 | 349,48 | <0,0001 |
| Error | 444,14 | 14 | 31,72 | | |
| Total | 11971,91 | 20 | | | |

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=15,70322

Error: 31,7243 gl: 14

| TRATAMIENTO | | Medias | n | E.E. |
|-------------|-------|--------|------|------|
| E2C1 | 73,46 | 3 | 3,25 | A |
| E1C1 | 68,64 | 3 | 3,25 | A |
| E2C3 | 67,59 | 3 | 3,25 | A |
| E2C2 | 65,08 | 3 | 3,25 | A |
| E1C2 | 59,73 | 3 | 3,25 | A |
| E1C3 | 59,49 | 3 | 3,25 | A |
| TESTIGO | 0,00 | 3 | 3,25 | B |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=6,24861

Error: 37,0117 gl: 12

| EXTRACTO | | Medias | n | E.E. |
|----------|-------|--------|------|------|
| E2 | 68,71 | 9 | 2,03 | A |
| E1 | 62,62 | 9 | 2,03 | A |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=9,37071

Error: 37,0117 gl: 12

| CONCENTRACIÓN | | Medias | n | E.E. |
|---------------|-------|--------|------|------|
| C1 | 71,05 | 6 | 2,48 | A |
| C3 | 63,54 | 6 | 2,48 | A |
| C2 | 62,40 | 6 | 2,48 | A |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=16,68491

Error: 37,0117 gl: 12

| EXTRACTO | | CONCENTRACIÓN | | Medias | n | E.E. |
|----------|----|---------------|---|--------|---|------|
| E2 | C1 | 73,46 | 3 | 3,51 | A | |
| E1 | C1 | 68,64 | 3 | 3,51 | A | |
| E2 | C3 | 67,59 | 3 | 3,51 | A | |
| E2 | C2 | 65,08 | 3 | 3,51 | A | |
| E1 | C2 | 59,73 | 3 | 3,51 | A | |
| E1 | C3 | 59,49 | 3 | 3,51 | A | |

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

DIA 5 o 120 horas

| Variable | N | R ² | R ² | Aj | CV |
|----------|----|----------------|----------------|------|----|
| DIA 5 | 21 | 0,99 | 0,98 | 5,24 | |

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|--------------|----------|----|----------|---------|---------|
| TRATAMIENTO | 13513,26 | 6 | 2252,21 | 217,98 | <0,0001 |
| EXTRACTO | 189,61 | 1 | 189,61 | 15,73 | 0,0019 |
| CONCENTRACN | 148,57 | 2 | 74,28 | 6,16 | 0,0144 |
| EXTRACTO*CON | 28,49 | 2 | 14,24 | 1,18 | 0,3401 |
| T VS RES | 13146,60 | 1 | 13146,60 | 1272,39 | <0,0001 |
| Error | 144,65 | 14 | 10,33 | | |
| Total | 13657,91 | 20 | | | |

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=8,96168

Error: 10,3322 gl: 14

| TRATAMIENTO | | Medias | n | E.E. |
|-------------|-------|--------|------|------|
| E2C1 | 77,09 | 3 | 1,86 | A |
| E2C3 | 73,89 | 3 | 1,86 | A B |
| E1C1 | 73,60 | 3 | 1,86 | A B |
| E2C2 | 73,26 | 3 | 1,86 | A B |
| E1C3 | 67,56 | 3 | 1,86 | B C |
| E1C2 | 63,61 | 3 | 1,86 | C |
| TESTIGO | 0,00 | 3 | 1,86 | D |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,56602

Error: 12,0543 gl: 12

| EXTRACTO | | Medias | n | E.E. |
|----------|-------|--------|------|------|
| E2 | 74,75 | 9 | 1,16 | A |
| E1 | 68,26 | 9 | 1,16 | B |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=5,34778

Error: 12,0543 gl: 12

| CONCENTRACIÓN | | Medias | n | E.E. |
|---------------|-------|--------|------|------|
| C1 | 75,34 | 6 | 1,42 | A |
| C3 | 70,73 | 6 | 1,42 | A B |
| C2 | 68,44 | 6 | 1,42 | B |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=9,52192

Error: 12,0543 gl: 12

| EXTRACTO | | CONCENTRACIÓN | | Medias | n | E.E. |
|----------|----|---------------|---|--------|-----|------|
| E2 | C1 | 77,09 | 3 | 2,00 | A | |
| E2 | C3 | 73,89 | 3 | 2,00 | A B | |

| | | | | | | |
|----|----|-------|---|------|---|---|
| E1 | C1 | 73,60 | 3 | 2,00 | A | B |
| E2 | C2 | 73,26 | 3 | 2,00 | A | B |
| E1 | C3 | 67,56 | 3 | 2,00 | B | C |
| E1 | C2 | 63,61 | 3 | 2,00 | | C |

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

DIA 6 o 144 horas

| | | | | | |
|----------|----|----------------|----------------|------|----|
| Variable | N | R ² | R ² | Aj | CV |
| DIA 6 | 21 | 0,99 | 0,99 | 3,89 | |

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|---------------|----------|----|----------|---------|---------|
| TRATAMIENTO | 14569,42 | 6 | 2428,24 | 391,07 | <0,0001 |
| EXTRACTO | 134,92 | 1 | 134,92 | 18,62 | 0,0010 |
| CONCENTRACION | 49,19 | 2 | 24,59 | 3,39 | 0,0679 |
| EXTRACTO*CON | 0,64 | 2 | 0,32 | 0,04 | 0,9571 |
| T VS RES | 14384,68 | 1 | 14384,68 | 2316,64 | <0,0001 |
| Error | 86,93 | 14 | 6,21 | | |
| Total | 14656,35 | 20 | | | |

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=6,94726

Error: 6,2093 gl: 14

| TRATAMIENTO | Medias | n | E.E. |
|-------------|--------|---|------------|
| E2C1 | 79,74 | 3 | 1,44 A |
| E2C3 | 77,16 | 3 | 1,44 A B |
| E2C2 | 75,69 | 3 | 1,44 A B C |
| E1C1 | 73,99 | 3 | 1,44 A B C |
| E1C3 | 72,22 | 3 | 1,44 B C |
| E1C2 | 69,96 | 3 | 1,44 C |
| TESTIGO | 0,00 | 3 | 1,44 D |

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,76445

Error: 7,2442 gl: 12

| EXTRACTO | Medias | n | E.E. |
|----------|--------|---|--------|
| E2 | 77,53 | 9 | 0,90 A |
| E1 | 72,06 | 9 | 0,90 B |

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,14570

Error: 7,2442 gl: 12

| CONCENTRACIÓN | Medias | n | E.E. |
|---------------|--------|---|--------|
| C1 | 76,87 | 6 | 1,10 A |
| C3 | 74,69 | 6 | 1,10 A |
| C2 | 72,82 | 6 | 1,10 A |

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=7,38157

Error: 7,2442 gl: 12

| EXTRACTO | CONCENTRACIÓN | Medias | n | E.E. |
|----------|---------------|--------|---|----------|
| E2 | C1 | 79,74 | 3 | 1,55 A |
| E2 | C3 | 77,16 | 3 | 1,55 A B |
| E2 | C2 | 75,69 | 3 | 1,55 A B |
| E1 | C1 | 73,99 | 3 | 1,55 A B |
| E1 | C3 | 72,22 | 3 | 1,55 B |
| E1 | C2 | 69,96 | 3 | 1,55 B |

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

DIA 7 o 168 horas

| Variable | N | R ² | R ² Aj | CV |
|----------|----|----------------|-------------------|------|
| DIA 7 | 21 | 1,00 | 0,99 | 3,37 |

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|---------------|----------|----|----------|---------|---------|
| TRATAMIENTO | 15718,95 | 6 | 2619,82 | 518,71 | <0,0001 |
| EXTRACTO | 140,67 | 1 | 140,67 | 23,87 | 0,0004 |
| CONCENTRACION | 18,41 | 2 | 9,20 | 1,56 | 0,2495 |
| EXTRACTO*CON | 0,75 | 2 | 0,38 | 0,06 | 0,9384 |
| T VS RES | 15559,11 | 1 | 15559,11 | 3080,60 | <0,0001 |
| Error | 70,71 | 14 | 5,05 | | |
| Total | 15789,65 | 20 | | | |

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=6,26567

Error: 5,0507 gl: 14

| TRATAMIENTO | Medias | n | E.E. | | | |
|-------------|--------|---|------|---|---|---|
| E2C1 | 81,49 | 3 | 1,30 | A | | |
| E2C3 | 80,73 | 3 | 1,30 | A | B | |
| E2C2 | 79,53 | 3 | 1,30 | A | B | C |
| E1C1 | 76,36 | 3 | 1,30 | A | B | C |
| E1C3 | 75,21 | 3 | 1,30 | | B | C |
| E1C2 | 73,40 | 3 | 1,30 | | | C |
| TESTIGO | 0,00 | 3 | 1,30 | | | D |

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,49323

Error: 5,8925 gl: 12

| EXTRACTO | Medias | n | E.E. | |
|----------|--------|---|------|---|
| E2 | 80,58 | 9 | 0,81 | A |
| E1 | 74,99 | 9 | 0,81 | B |

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,73896

Error: 5,8925 gl: 12

| CONCENTRACIÓN | Medias | n | E.E. | |
|---------------|--------|---|------|---|
| C1 | 78,92 | 6 | 0,99 | A |
| C3 | 77,97 | 6 | 0,99 | A |
| C2 | 76,47 | 6 | 0,99 | A |

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=6,65736

Error: 5,8925 gl: 12

| EXTRACTO | CONCENTRACIÓN | Medias | n | E.E. | | |
|----------|---------------|--------|---|------|---|---|
| E2 | C1 | 81,49 | 3 | 1,40 | A | |
| E2 | C3 | 80,73 | 3 | 1,40 | A | |
| E2 | C2 | 79,53 | 3 | 1,40 | A | B |
| E1 | C1 | 76,36 | 3 | 1,40 | A | B |
| E1 | C3 | 75,21 | 3 | 1,40 | A | B |
| E1 | C2 | 73,40 | 3 | 1,40 | | B |

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

DIA 8 o 192 horas

| Variable | N | R ² | R ² Aj | CV |
|----------|----|----------------|-------------------|------|
| DIA 8 | 21 | 1,00 | 1,00 | 2,75 |

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|---------------|----------|----|----------|---------|---------|
| TRATAMIENTO | 16159,50 | 6 | 2693,25 | 776,21 | <0,0001 |
| EXTRACTO | 120,33 | 1 | 120,33 | 29,73 | 0,0001 |
| CONCENTRACION | 24,66 | 2 | 12,33 | 3,05 | 0,0852 |
| EXTRACTO*CON | V1,87 | 2 | 0,94 | 0,23 | 0,7970 |
| T VS RES | 16012,64 | 1 | 16012,64 | 4614,95 | <0,0001 |
| Error | 48,58 | 14 | 3,47 | | |
| Total | 16208,08 | 20 | | | |

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=5,19327

Error: 3,4697 gl: 14

| TRATAMIENTO | Medias | n | E.E. | |
|-------------|--------|---|------|-----|
| E2C3 | 82,49 | 3 | 1,08 | A |
| E2C1 | 82,14 | 3 | 1,08 | A |
| E2C2 | 79,86 | 3 | 1,08 | A B |
| E1C1 | 77,76 | 3 | 1,08 | A B |
| E1C3 | 76,53 | 3 | 1,08 | B |
| E1C2 | 74,69 | 3 | 1,08 | B |
| TESTIGO | 0,00 | 3 | 1,08 | C |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,06650

Error: 4,0480 gl: 12

| EXTRACTO | Medias | n | E.E. | |
|----------|--------|---|------|---|
| E2 | 81,50 | 9 | 0,67 | A |
| E1 | 76,33 | 9 | 0,67 | B |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,09902

Error: 4,0480 gl: 12

| CONCENTRACIÓN | Medias | n | E.E. | |
|---------------|--------|---|------|---|
| C1 | 79,95 | 6 | 0,82 | A |
| C3 | 79,51 | 6 | 0,82 | A |
| C2 | 77,28 | 6 | 0,82 | A |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=5,51792

Error: 4,0480 gl: 12

| EXTRACTO | CONCENTRACIÓN | Medias | n | E.E. | |
|----------|---------------|--------|---|------|-----|
| E2 | C3 | 82,49 | 3 | 1,16 | A |
| E2 | C1 | 82,14 | 3 | 1,16 | A |
| E2 | C2 | 79,86 | 3 | 1,16 | A B |
| E1 | C1 | 77,76 | 3 | 1,16 | A B |
| E1 | C3 | 76,53 | 3 | 1,16 | B |
| E1 | C2 | 74,69 | 3 | 1,16 | B |

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

DIA 9 o 216 horas

| Variable | N | R ² | R ² Aj | CV |
|----------|----|----------------|-------------------|------|
| DIA 9 | 21 | 1,00 | 1,00 | 2,51 |

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|---------------|----------|----|----------|---------|---------|
| TRATAMIENTO | 15770,21 | 6 | 2628,37 | 935,11 | <0,0001 |
| EXTRACTO | 103,92 | 1 | 103,92 | 31,69 | 0,0001 |
| CONCENTRACION | 19,45 | 2 | 9,72 | 2,97 | 0,0898 |
| EXTRACTO*CON | 4,28 | 2 | 2,14 | 0,65 | 0,5383 |
| T VS RES | 15642,57 | 1 | 15642,57 | 5565,27 | <0,0001 |
| Error | 39,35 | 14 | 2,81 | | |
| Total | 15809,56 | 20 | | | |

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=4,67416

Error: 2,8107 gl: 14

| TRATAMIENTO | Medias | n | E.E. | |
|-------------|--------|---|------|-------|
| E2C3 | 81,19 | 3 | 0,97 | A |
| E2C1 | 80,51 | 3 | 0,97 | A B |
| E2C2 | 79,49 | 3 | 0,97 | A B |
| E1C1 | 76,95 | 3 | 0,97 | A B C |
| E1C3 | 76,27 | 3 | 0,97 | B C |
| E1C2 | 73,56 | 3 | 0,97 | C |
| TESTIGO | 0,00 | 3 | 0,97 | D |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,85994

Error: 3,2792 gl: 12

| EXTRACTO | Medias | n | E.E. | |
|----------|--------|---|------|---|
| E2 | 80,40 | 9 | 0,60 | A |
| E1 | 75,59 | 9 | 0,60 | B |

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,78925

Error: 3,2792 gl: 12

| CONCENTRACIÓN | Medias | n | E.E. | |
|---------------|--------|---|------|---|
| C1 | 78,73 | 6 | 0,74 | A |
| C3 | 78,73 | 6 | 0,74 | A |
| C2 | 76,53 | 6 | 0,74 | A |

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

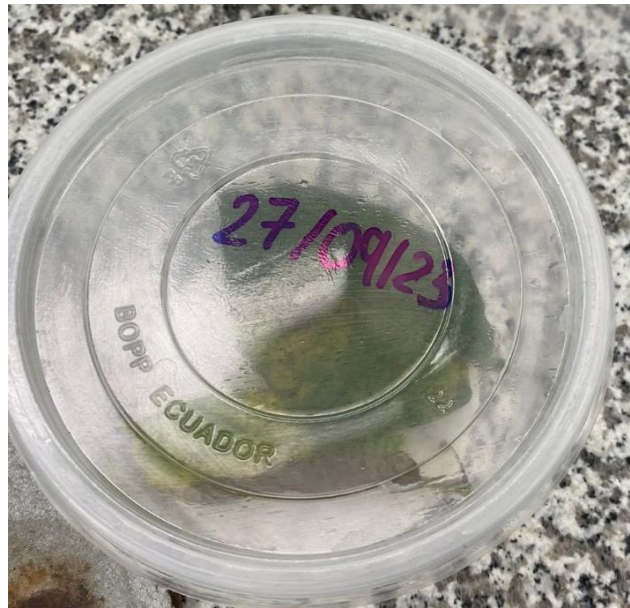
Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=4,96636

Error: 3,2792 gl: 12

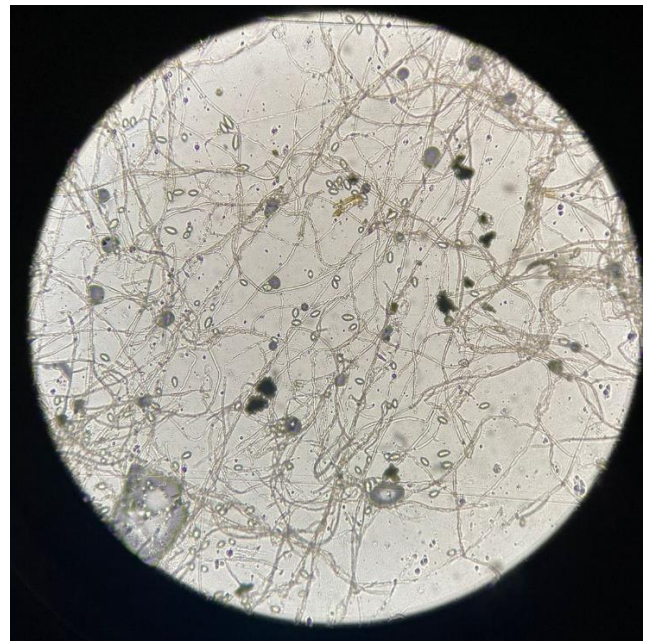
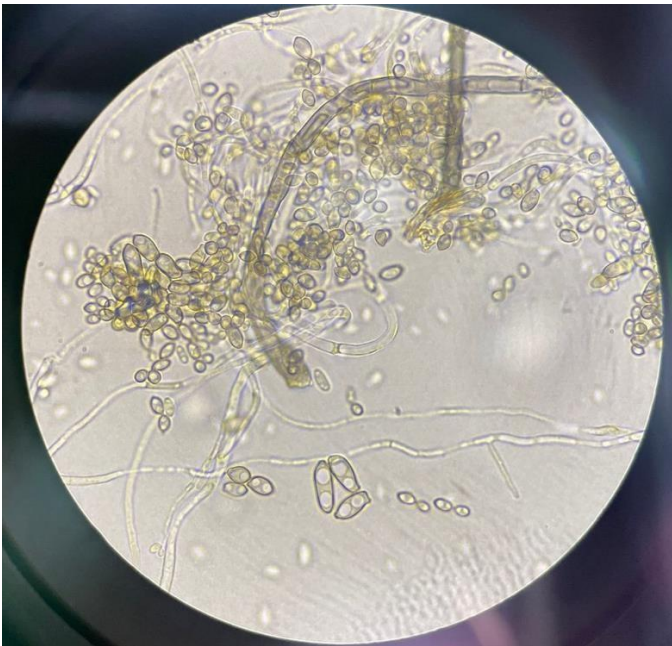
| EXTRACTO | CONCENTRACIÓN | Medias | n | E.E. | |
|----------|---------------|--------|---|------|-----|
| E2 | C3 | 81,19 | 3 | 1,05 | A |
| E2 | C1 | 80,51 | 3 | 1,05 | A |
| E2 | C2 | 79,49 | 3 | 1,05 | A |
| E1 | C1 | 76,95 | 3 | 1,05 | A B |
| E1 | C3 | 76,27 | 3 | 1,05 | A B |
| E1 | C2 | 73,56 | 3 | 1,05 | B |

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

Anexo 2. Cámara húmeda para propagación de *Phytophthora infestans* de Bary.



Anexo 3. Vista de *P. infestans* bajo microscopio.



Anexo 4. Preparación de hojas de coles de Bruselas y de Brócoli para ponerlas en estufa



Anexo 5. Hojas de coles de Bruselas y Brócoli en estufa



Anexo 6. Hojas trituradas de Brócoli y col de Bruselas.



Anexo 7. Macerado de hojas de col Bruselas y de Brócoli en alcohol al 70%.



Anexo 8. Destilación



Figura 1. Destilación de las hojas de coles de Bruselas; extracto de coles de Bruselas



Figura 2. Destilación de las hojas de Brócoli; extracto de Brócoli



Figura 3. Salida del extracto de Brócoli

Anexo 9. Preparación de medio



Figura 4. Preparación del medio HMA para la reproducción de *P. infestans*.

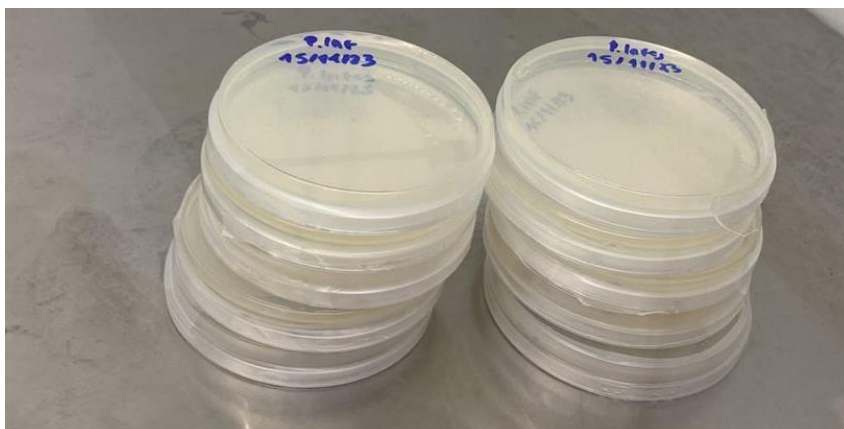


Figura 5. Plaqueo de cajas de Petri para propagación de *P. infestans*.



Figura 6. *P. infestans* después de 24 horas en incubación

Anexo 10. Esterilización de materiales



Figura 7. Autoclave para esterilizar todos los materiales para realizar la siembra de *P. infestans* en el medio envenenado con las diferentes dosis de los diferentes extractos.



Figura 8. Materiales incorporados en autoclave y en UV para al siguiente día realizar la siembra, sin UV ya que *P. infestans* es un Oomycete el cual puede matar el UV.

Anexo 11. Siembra



Figura 9. Filtro de jeringa milipore de 0.22 μm para que cada extracto de cada concentración salga esteril de tal manera que no contamine el medio de cultivo donde se va a incorporar *P. infestans*.

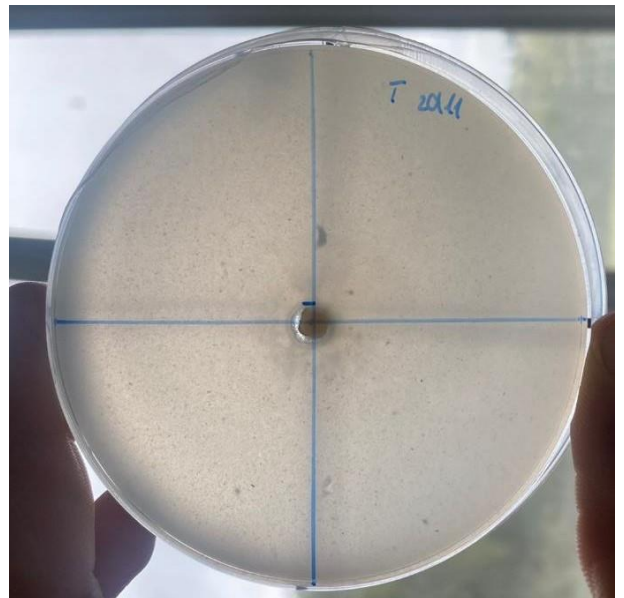
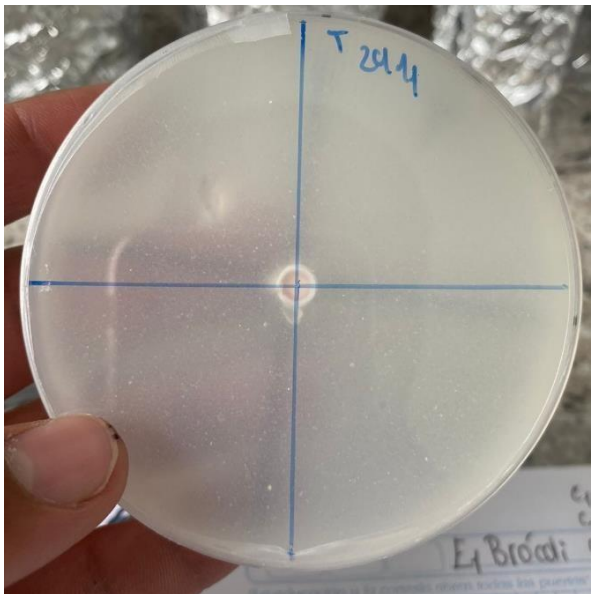


Figura 10. Siembra finalizada con 7 tratamientos los cuales tienen diferentes concentraciones y puestos en diferentes papel aluminio para diferenciar cada tratamiento.



Figura 11. Siembra finalizada de *P. infestans* con difusión en Agar en diferentes concentraciones.

Anexo 12. Toma de datos



Figuras 12. *P. infestans* desarrollándose en el medio de cultivo envenenado

Anexo 13. Comparación

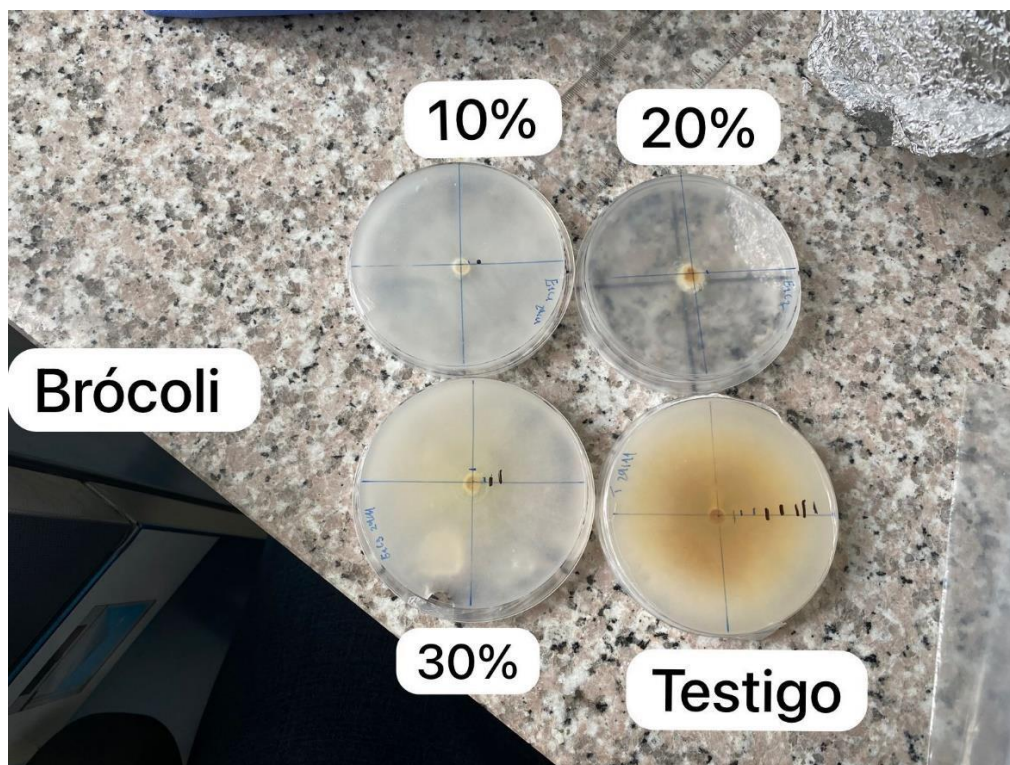


Figura 13. Comparación del extracto de Brócoli en concentraciones de 10%, 20%, 30% y el testigo después de haber pasado 9 días en incubación a 23°C. Envés de la caja Petri.

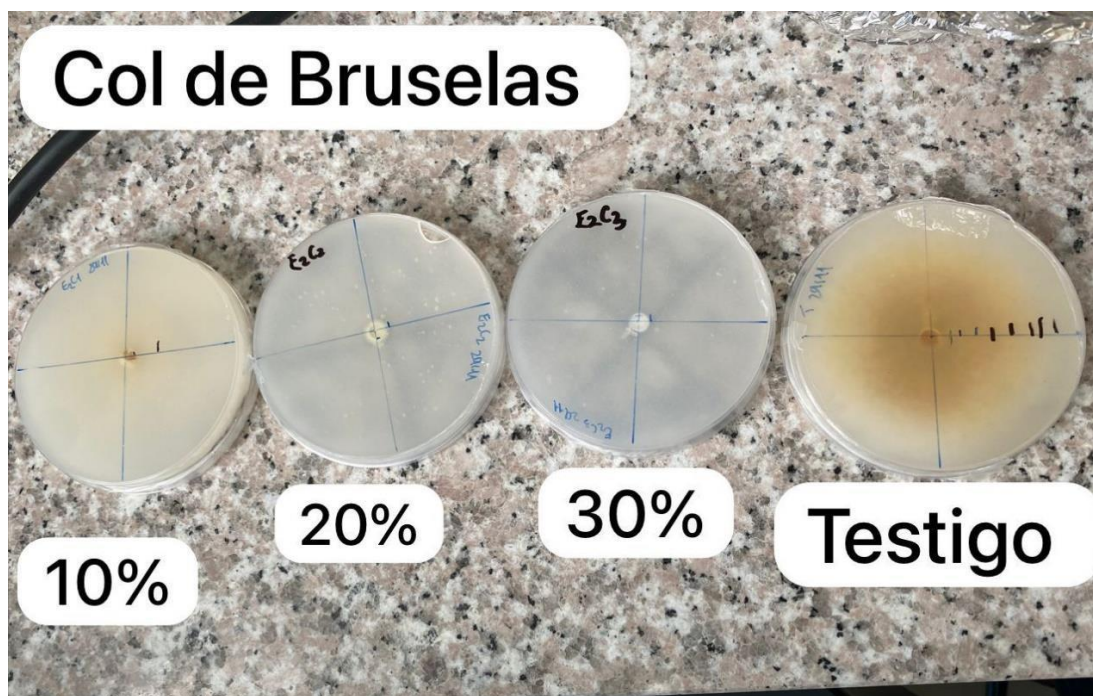


Figura 14. Comparación del extracto de Col de Bruselas en concentraciones de 10%, 20%, 30% y el testigo después de haber pasado 9 días en incubación a 23°C. Envés de la caja Petri.

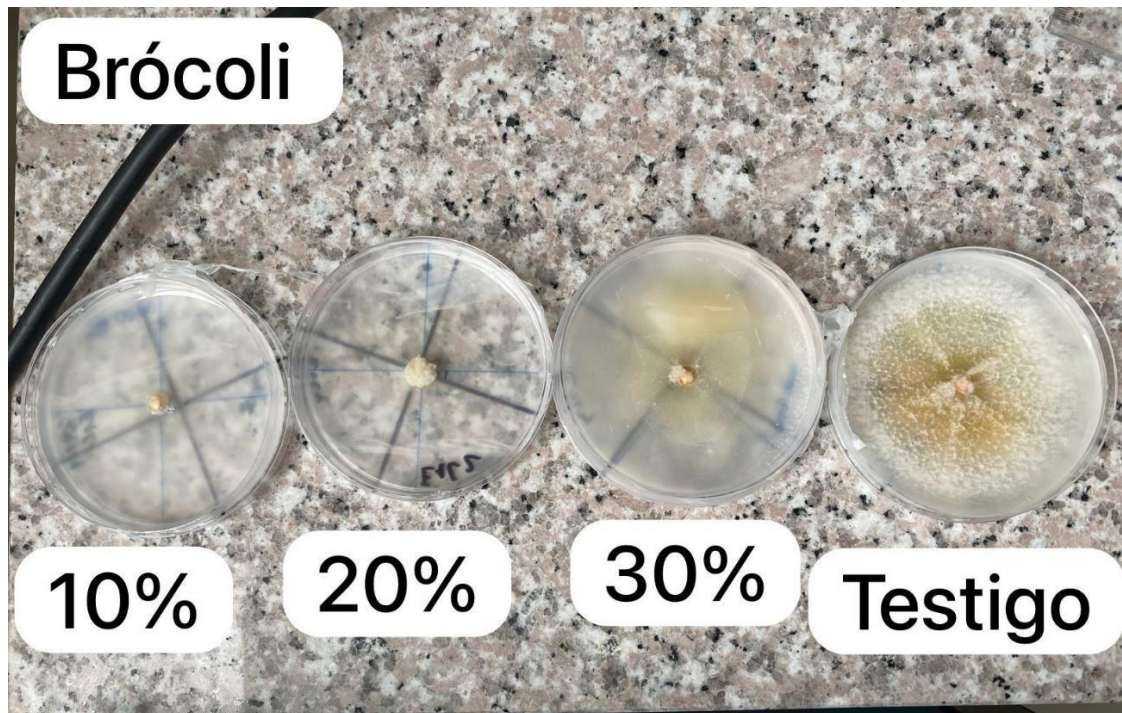


Figura 15. Comparación del extracto de Brócoli en concentraciones de 10%, 20%, 30% y el testigo después de haber pasado 9 días en incubación a 23°C. Frente de la caja Petri.

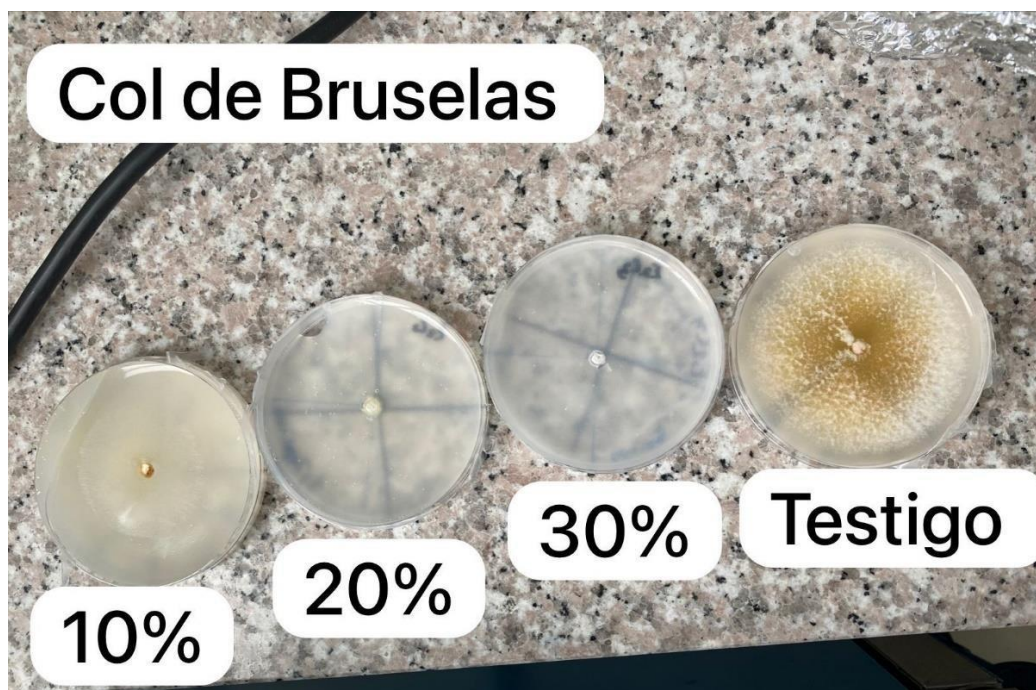


Figura 16. Comparación del extracto de col de Bruselas en concentraciones de 10%, 20%, 30% y el testigo después de haber pasado 9 días en incubación a 23°C. Frente de la caja de Petri.

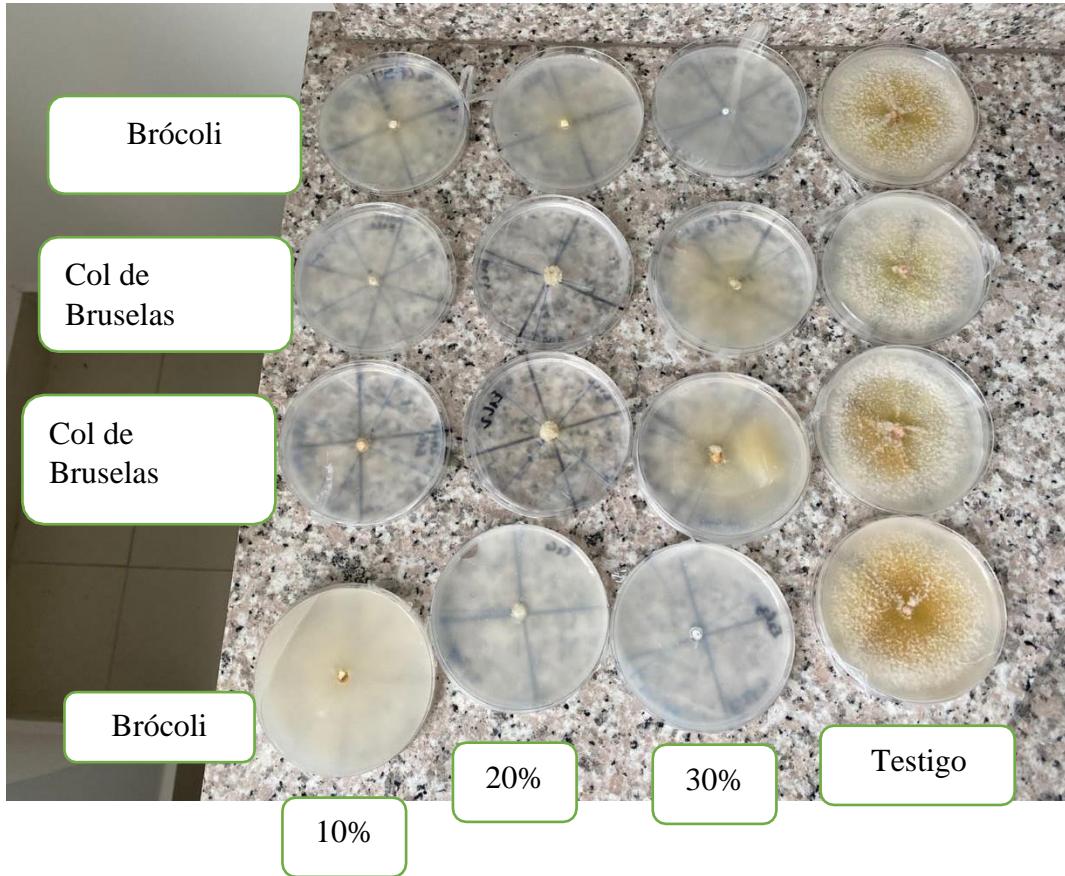


Figura 17. Diferentes tratamientos