



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA

ESCUELA DE INGENIERÍA PARA EL DESARROLLO AGROINDUSTRIAL

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

PROYECTO DE TESIS

TEMA:

**APLICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES *Mentha spicata*
(HIERBABUENA) Y *Matricaria chamomilla* (MANZANILLA) EN LA
INHIBICIÓN DE HONGOS EN DOS VARIEDADES DE TOMATE**

AUTOR:

MARY CRUZ SABANDO VARELA

DIRECTORA:

Ing. M.Sc. Flor Marina Fon Fay Vásquez

QUEVEDO – LOS RÍOS

2015



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
Facultad de Ciencias de la Ingeniería
Escuela de Ingeniería para el Desarrollo Agroindustrial

Teléfonos: (593-05) 2750320 – 2752430 – 2753302

Fax: (593-05) 2753300 – 2753303

e-mail: info@uteg.edu.ec

Página web: www.uteg.edu.ec

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

Km. 1.5 vía a Quito

CASILLAS

Guayaquil: 10672

Quevedo: 73

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **MARY CRUZ SABANDO VARELA**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

MARY CRUZ SABANDO VARELA



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
Facultad de Ciencias de la Ingeniería
Escuela de Ingeniería para el Desarrollo Agroindustrial

Teléfonos: (593-05) 2750320 – 2752430 – 2753302

Fax: (593-05) 2753300 – 2753303

e-mail: info@uteq.edu.ec

Página web: www.uteq.edu.ec

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

Km. 1.5 vía a Quito

CASILLAS

Guayaquil: 10672

Quevedo: 73

CERTIFICADO

La suscrita, M.Sc. Ing. Química Flor Marina Fon Fay Vásquez, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que la Egresada MARY CRUZ SABANDO VARELA, realizó la tesis de grado previo a la obtención del título de Ingeniera Agroindustrial titulada **APLICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES *Mentha spicata* (HIERBABUENA) Y *Matricaria chamomilla* (MANZANILLA) EN LA INHIBICIÓN DE HONGOS EN DOS VARIEDADES DE TOMATE**, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Ing. M.Sc. Flor Marina Fon Fay Vásquez.

DIRECTORA DE TESIS



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
Facultad de Ciencias de la Ingeniería
Escuela de Ingeniería para el Desarrollo Agroindustrial

Teléfonos: (593-05) 2750320 – 2752430 – 2753302
Fax: (593-05) 2753300 – 2753303
e-mail: info@uteq.edu.ec
Página web: www.uteq.edu.ec

Quevedo – Los Ríos – Ecuador
Km. 1.5 vía a Quito

CASILLAS
Guayaquil: 10672
Quevedo: 73

CERTIFICACIÓN

Yo, Soc. Teddy Elizabeth De la Cruz con CC N°. 0910481522, docente de la Facultad de Ciencias de la Ingeniería de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifico que he revisado la tesis de grado de la Egresada **MARY CRUZ SABANDO VARELA** con CC N°. 131114437-0 previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, titulada “**APLICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES *Mentha spicata* (HIERBABUENA) Y *Matricaria chamomilla* (MANZANILLA) EN LA INHIBICIÓN DE HONGOS EN DOS VARIEDADES DE TOMATE**”, habiendo cumplido con la redacción y corrección ortográfica que se ha indicado.

Soc. Teddy Elizabeth De la Cruz Valdiviezo
MSC. DOCENCIA Y CURICULUM



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
Facultad de Ciencias de la Ingeniería
Escuela de Ingeniería para el Desarrollo Agroindustrial

Teléfonos: (593-05) 2750320 – 2752430 – 2753302

Fax: (593-05) 2753300 – 2753303

e-mail: info@uteq.edu.ec

Página web: www.uteq.edu.ec

Quevedo – Los Ríos – Ecuador
Km. 1.5 vía a Quito

CASILLAS
Guayaquil: 10672
Quevedo: 73

CERTIFICACIÓN

Yo, Dra. Sungey Naynee Sánchez Llaguno, docente de la Facultad de Ciencias de la Ingeniería de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifico que he revisado la tesis de grado de la Egresada **MARY CRUZ SABANDO VARELA** con CC N°. 131114437-0 previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, titulada “**APLICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES *Mentha spicata* (HIERBABUENA) Y *Matricaria chamomilla* (MANZANILLA) EN LA INHIBICIÓN DE HONGOS EN DOS VARIEDADES DE TOMATE**”, habiendo cumplido con la redacción y corrección ortográfica que se ha indicado.

Sungey Naynee Sánchez Llaguno Ph.D
MIEMBRO DE TRIBUNAL



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
Facultad de Ciencias de la Ingeniería
Escuela de Ingeniería para el Desarrollo Agroindustrial

Teléfonos: (593-05) 2750320 – 2752430 – 2753302

Fax: (593-05) 2753300 – 2753303

e-mail: info@uteq.edu.ec

Página web: www.uteq.edu.ec

Quevedo – Los Ríos – Ecuador
Km. 1.5 vía a Quito

CASILLAS
Guayaquil: 10672
Quevedo: 73

CERTIFICACIÓN

Yo, Ing. MSc. Iván Viteri García, docente de la Facultad de Ciencias de la Ingeniería de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifico que he revisado la tesis de grado de la Egresada **MARY CRUZ SABANDO VARELA** con CC N°. 131114437-0 previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, titulada “**APLICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES *Mentha spicata* (HIERBABUENA) Y *Matricaria chamomilla* (MANZANILLA) EN LA INHIBICIÓN DE HONGOS EN DOS VARIEDADES DE TOMATE**”, habiendo cumplido con la redacción y corrección ortográfica que se ha indicado.

Ing. Ms. Sc. Iván Patricio Viteri García
MIEMBRO DE TRIBUNAL



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
Facultad de Ciencias de la Ingeniería
Escuela de Ingeniería para el Desarrollo Agroindustrial

Teléfonos: (593-05) 2750320 – 2752430 – 2753302

Fax: (593-05) 2753300 – 2753303

e-mail: info@uteq.edu.ec

Página web: www.uteq.edu.ec

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

Km. 1.5 vía a Quito

CASILLAS

Guayaquil: 10672

Quevedo: 73

CERTIFICACIÓN

PROF. JUAN ALEJANDRO NEIRA MOSQUERA, DOCENTE INVESTIGADOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERIA CERTIFICA:

Luego de revisado el trabajo de Tesis de grado “**APLICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES *Mentha spicata* (HIERBABUENA) Y *Matricaria chamomilla* (MANZANILLA) EN LA INHIBICIÓN DE HONGOS EN DOS VARIEDADES DE TOMATE,**”. Previo a la obtención del título Ingeniero Agroindustrial de la autoría de la Srta.: **MARY CRUZ SABANDO VARELA**, informo que este trabajo de investigación cumple con los criterios mínimos de investigación exigidos, por lo que en calidad de **PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE TESIS** considero que el trabajo puede ser presentado para la sustentación respectiva.

Atentamente.

JUAN ALEJANDRO NEIRA MOSQUERA Ph.D.
PRESIDENTE DE TRIBUNAL DE TESIS



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA PARA EL DESARROLLO
AGROINDUSTRIAL
CARRERA: INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

Tesis de grado presenta al Honorable Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Ingeniería Previo a la Obtención del Título de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

Título de tesis:

“APLICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES *Mentha spicata* (HIERBABUENA) Y *Matricaria chamomilla* (MANZANILLA) EN LA INHIBICIÓN DE HONGOS EN DOS VARIEDADES DE TOMATE)”.

Aprobado:

Juan Alejandro Neira Mosquera Ph.D
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE TESIS

Ing. Ms. Sc. Iván Viteri García
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Sungey Naynee Sánchez Llaguno Ph.D.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

QUEVEDO – ECUADOR

2015

AGRADECIMIENTO

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, y por brindarme una vida llena de aprendizajes y experiencias, gracias a mis padres Daniel Sabando y Amparo Varela por apoyarme en todo momento, por los valores que me han inculcado, y sobre todo por ser un excelente ejemplo de vida a seguir.

A mi hermana Daniela Sabando por ser parte importante de mi vida. A Yuli Franco y Flor Narváez, por que más que amigas han sido mis hermanas en los buenos y malos momentos, por el apoyo incondicional y paciencia que me brindaron.

A la Universidad Técnica Estatal de Quevedo por brindarme una formación académica y poder ser una futura profesional. A la Facultad de Ciencias de la Ingeniería y a la carrera de Ingeniería Agroindustrial por impulsar la investigación y desarrollo agroindustrial del Ecuador. Además de las autoridades y docentes que hacen lo posible por el progreso de esta noble institución.

Al Dr. Juan Neira por la asistencia y cooperación brindada en el proceso y ejecución de este trabajo de investigación.

A la M.Sc. Ing. Química Flor Marina Fon Fay Vásquez por haber colaborado y dirigido acertadamente esta tesis.

A la Ing. Malena Martínez, por su apoyo proporcionado para perseverar en el desarrollo de este trabajo.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional a las que les agradezco su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía, importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

Mary Cruz Sabando Varela

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a mi Dios quién supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

A mi familia quienes por ellos soy lo que soy.

A mis padres por su apoyo, consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles, y por ayudarme con los recursos necesarios para estudiar. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia, mi coraje para conseguir mis objetivos.

A cada una de las personas que ha formado parte de mi vida por brindarme el apoyo y la valentía para seguir adelante.

Mary Cruz Sabando Varela

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO

Portada	I
Declaración de autoría y cesión de derecho	ii
Certificado de directora de Tesis	iii
Certificación de Docencia	iv
Certificaciones de los miembros del tribunal	v
Tribunal de Tesis	vi
Agradecimiento	ix
Dedicatoria	x
Índice de Contenido	xii
Índice de cuadros	xv
Índice de anexos	xvi
Resumen	xvii
Abstract	xviii

INDICE DE CONTENIDO

CAPÍTULO I	1
1. MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN	2
1.2. Problematicación	4
1.3. Justificación	6
1.4. Objetivos	7
1.5. Hipótesis	8
1.5.1. Hipótesis Nula	8
1.5.2. Hipótesis Alternativa	8
1.6. Variables de Estudio	9
CAPÍTULO II	10
2. MARCO TEÓRICO	11
2.1. Fundamentación Teórica	11
2.1.1. Lycopersicon esculentum Mill. (Tomate Riñón)	11
2.1.2. Aceites Esenciales	14
2.1.2.5. Aceite Esencial Matricaria chamomilla (MANZANILLA)	17
2.1.3. Aceite Esencial de Mentha spicata o piperita L. (Hierbabuena)	19
2.1.4. Identificación de hongos	19
2.1.5. Reino Fungi	20
2.1.5.1. Fusarium sp.	20
2.1.5.2. Alternaria sp.	20
CAPITULO III	22
3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	23
3.1. Ubicación y Característica de la Investigación	23
3.4. Factores de Estudio	27

3.4.1. Diseño experimental	27
3.4.2. Cuadro de tratamientos.....	28
3.4.3. Características del experimento.....	28
3.4.4. Análisis estadístico.....	28
3.4.5. Diagrama de bloques de aislamiento de hongos	29
CAPITULO IV	32
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
4.1. Resultados	33
4.2. Discusión.....	41
CAPITULO V	44
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	45
5.1. Conclusiones.....	45
5.2. Recomendaciones.....	47
CAPITULO VI	48
6. BIBLIOGRAFÍA.....	49
6.1. Literatura Citada.....	49
CAPITULO VII	52
7. ANEXOS.....	53

INDICE DE CUADROS

Pág.

CUADRO N° 1:	Factores de Estudio que Intervienen en el Efecto de los Aceites Esenciales de Manzanilla y Hierbabuena en la Inhibición de Hongos en Tomate	27
CUADRO N° 2:	Combinación de los Tratamientos Propuestos para el Diseño Experimental del Efecto del Aceite Esencial para la Inhibición de Hongos en Tomate	28
CUADRO N° 3:	Análisis de Varianza para Crecimiento Radial	33
CUADRO N° 4:	Análisis De Varianza Para Evaluación De Esporas	34
CUADRO N° 5:	Prueba de Tukey por Interacción ABC (Tipos De Tomates*Tipos De Aceites Esenciales*Concentraciones De Aceites Esenciales)	39

INDICE DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO N° 1: Actividad fúngica de los aceites esenciales de <i>Matricaria chamomilla</i> (Manzanilla) y <i>Mentha spicata</i> (Hierbabuena)	53
ANEXO N° 2: Evaluación de los testigos <i>Fusarium sp.</i> , y <i>Altenaria sp.</i> , durante siete días	56
ANEXO N° 3: Evaluación total de los porcentajes de inhibición de los hongos <i>Fusarium sp.</i> , y <i>Alternaria sp.</i> , en crecimiento radial	57
ANEXO N° 4: Evaluación total de los tratamientos en el porcentaje de inhibición de esporas	57
ANEXO N° 5: Fotos de la fase experimental	58
ANEXO N° 6: Técnica de laboratorio para aislar hongos	63
ANEXO N° 7: Técnica de laboratorio para crecimiento radial	65
ANEXO N° 8: Técnica de laboratorio para evaluación de esporas	66
ANEXO N° 9: Análisis de varianza para Crecimiento Radial	68
ANEXO N° 10: Análisis de varianza de la evaluación de esporas	69
ANEXO N° 11: Certificados de Laboratorio	71

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación, es evaluar los efectos de los aceites esenciales de *Mentha spicata* (Hierbabuena) y *Matricaria chamomilla* (Manzanilla), en la inhibición de hongos en dos variedades de tomate, con el propósito de incorporar los aceites esenciales como método de conservación. Se utilizaron muestras de la variedad de tomate riñón, consiguiendo pequeños ejemplares para la siembra de hongos, en este caso se estudió: *Fusarium sp.*, y *Alternaria sp.*, para esto se planteó una investigación en la que intervinieron 12 tratamientos y 2 repeticiones con concentraciones de aceites esenciales de 100 µl, 200 µl y 400 µl. De lo cual se determinó el crecimiento radial y evaluación del porcentaje de inhibición de esporas.

El desarrollo de la investigación se la realizó en los laboratorios de Química Básica y Biotecnología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

Con respecto al análisis estadístico se empleó un diseño de bloques completamente al azar con arreglo factorial A*B*C y 2 repeticiones considerando como factor A (Tipos de tomates riñón), factor B (aceites esenciales de *Mentha spicata* y *Matricaria chamomilla*) y factor C (Concentraciones de aceites esenciales de 100 µl, 200 µl y 400 µl). Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico StatGraphics y para separar la media de los niveles entre los tratamientos se concurrió a la prueba de significación de Tukey ($p < 0.05$).

En el crecimiento radial se encontró diferencia significativa en el factor A (Variedad de tomate riñón) y en el factor B (Tipos de aceites esenciales), siendo los mejores tratamientos para el factor A, a_1 (Tomate chonto), y en factor B b_1 (A.E de hierbabuena), mientras que en el factor C (Concentraciones de aceites esenciales), no existió diferencia significativa, siendo el mejor tratamiento, c_1 (Concentración de aceite esencial 200 µl).

Con respecto a la evaluación de esporas en inhibición, existió diferencia significativa entre los tres factores, siendo los mejores tratamientos en el factor A (Variedad de tomate riñón), a₁ (Tomate chonto), en el factor B (Tipos de aceites esenciales), b₁ (A.E de hierbabuena) y en el factor C (Concentraciones de aceites esenciales) C₂ (400 µl).

Palabras claves: Tomate, aceites esenciales, crecimiento radial, inhibición de esporas

ABSTRACT

The objective of this project is to evaluate the effect of the essential oils of *Mentha spicata* (Spearmint) and *Matricaria chamomilla* (chamomile) in the inhibition of fungi in two varieties of tomato kidney, with the purpose of adding essential oils as a preservation method. Samples of the variety of kidney tomato were used, achieving small specimens for planting mushrooms in this case was studied. *Fusarium sp.*, and *Alternaria sp.*, for this research in which 12 treatments and two repetitions was raised. Concentrations of essential oils 100 ul, 200 ul and 400 ul. Which the radial growth and assessing the percentage of inhibition of spores was determined.

This research was conducted in the laboratories of Basic Chemistry and Biotechnology at the Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

Regarding the statistical analysis used a design completely randomized block factorial arrangement A * B * C and 2 repetitions considering as factor A (Types of tomatoes), factor B (*Mentha spicata* essential oils and *Matricaria chamomilla*) and factor C (concentrations of essential oils 100 ul, 200 ul and 400 ul). Statgraphics statistical package was used in the analysis of the data and to divide the mean levels of treatments attended the Tukey significance test ($p < 0.05$).

In the estimation of radial growth treatments significant difference in the factor A (tomato variety kidney) and factor B (Types of essential oils), being the best treatments for Factor A, a1 (Tomato chonto), b1 and factor B (AE peppermint), while the factor C (concentrations of essential oils), there was no significant difference being the best treatment, c1 (concentration of essential oil 200 ul).

With respect to the evaluation of inhibition of spore outgrowth, significant difference between the three factors, the best treatments in the factor A (tomato variety kidney), a1 (Tomato chonto) in the factor B (Types of essential oils), b1 (peppermint AE) and the factor C (concentrations of essential oils) C2 (400 ul).

Keywords: Tomato, essential oils, radial growth inhibition of spores

CAPÍTULO I

1. MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Introducción

1.1.1. Antecedentes

El tomate es ampliamente aceptado como parte de una dieta saludable ya que es un factor importante en la prevención de las enfermedades crónicas, y en mejorar el equilibrio energético y el control de peso. El tomate es el segundo vegetal importante en el mundo después de la papa, este cultivo hortícola constituye una excelente fuente de compuestos que promueven la salud, debido a la mezcla equilibrada de minerales y antioxidantes como las vitaminas C y E, licopeno, β -caroteno, luteína y los flavonoides tales como quercetina. Mejora de fitonutrientes en los tomates se puede lograr mediante la selección de cultivares, los factores ambientales, prácticas agronómicas, etapa de madurez en la cosecha y el manejo adecuado y acondicionado todo el camino desde el campo hasta el consumidor (Dorais, Ehret, & Papadopoulos, 2008).

Uno de los efectos causantes del deterioro de los tomates es la presencia de hongos que se desarrollan al tener varios días expuestos al medio sin ningún trato de conservación o que el tomate presente enfermedades de post cosecha, que van desde la contaminación en el campo o invernadero para dirigir o contaminación cruzada durante la cosecha, la manipulación y preparación de tomate como un producto agrícola crudo (Bartz, y otros, 2015).

Para dar solución a los problemas de hongos en tomate es necesario buscar nuevas técnicas de conservación, más amigables con el consumidor. Las cifras de incidencia de enfermedades entre los muchos factores que limitan la producción de tomate y de la cuenta de utilización de fungicidas para el 17 % de los costes totales de producción de un cultivo (FAEG/GETEC, 2010), (Alves de Aguiar, Gomes da Cunha, & Murillo Lobo, 2014).

La importancia de esta investigación es utilizar los aceites esenciales de *Mentha spicata* (Hierbabuena) y *Matricaria chamomilla* (Manzanilla) como inhibidores de hongos, reduciendo y evitando las pérdida por deterioro de la materia prima. Utilizando diferentes concentraciones en porcentajes, y respondiendo a su vez la hipótesis planteada “La actividad anti fúngica de los aceites esenciales *Mentha spicata* (Hierbabuena) y *Matricaria chamomilla* (Manzanilla), influyen por el método de inhibición en tomate de postcosecha”.

1.2. Problematización

1.2.1. Diagnóstico

Una de las principales causas de descomposición del tomate en post cosecha, es la presencia de hongos que se desarrollan, no sólo en la parte superficial al tener varios días expuestos al medio sin ningún tratamiento de conservación, sino también internamente debido a la presencia de microorganismos patógenos, puede simplemente modificar sus características organolépticas, es decir su color, sabor, olor, textura, de manera que resulten menos apetitosos y atractivos, o puede deteriorar sus componentes provocando pérdidas de su valor nutritivo (Galiano, 2013).

El deterioro de los alimentos es un proceso inevitable que avanza de menor a mayor. La vida útil de todo alimento está limitada por factores de tipo físico, químico y biológico, y todas las técnicas de conservación y procesado tienen como fin estabilizar la composición del alimento reduciendo sus modificaciones (Javier Vioque, 2000).

1.2.2. Formulación del problema

¿El desconocimiento del uso de los aceites esenciales de *Mentha spicata* (Hierbabuena) y *Matricaria chamomilla* (Manzanilla), como actividad antimicrobiana, limita la aplicación como inhibidores de hongos?

1.2.3. Sistematización del problema

Cómo opción de conservación de vegetales altamente perecibles podría ser la utilización de aceites esenciales de *Mentha spicata* (Hierbabuena) y *Matricaria chamomilla* (Manzanilla), como inhibidores de hongos, para evitar enfermedades conocidas como ETA (enfermedades transmitidas por los alimentos), llamadas así por que actúan como vínculo en la transmisión de organismos patógenos y algunas

sustancias tóxicas. Utilizando cómo investigación la siembra de los hongos presentes en tomate de postcosecha.

Se desconoce la actividad inhibidora y efecto de los aceites esenciales *Mentha spicata* (Hierbabuena) y *Matricaria chamomilla* (Manzanilla), en las dos variedades de tomate.

Se desconoce la concentración óptima de los aceites esenciales *Mentha spicata* (Hierbabuena) y *Matricaria chamomilla* (Manzanilla), en la inhibición fúngica en tomate de postcosecha.

1.3. Justificación

Tomates y derivados del tomate son la principal fuente de compuestos de licopeno, y también se consideran una fuente importante de carotenoides en la dieta humana. La degradación indeseable del licopeno no sólo afecta a la calidad sensorial de los productos finales, sino también en beneficio de la salud de los alimentos a base de tomate para el cuerpo humano (Shi & Le Maguer, 2010).

El tomate es un producto que no solo se utiliza en las comidas diarias, sino en las industrias para fabricar, salsa, jugos, pasta, entre otros. Por lo que se busca alternativas de conservación, como el uso de los aceites esenciales de Manzanilla y de Hierbabuena aplicados en diferentes concentraciones.

Este proyecto propone solucionar problemas del deterioro de las hortalizas como el tomate atacados por hongos causando pérdidas económicas a quienes ofertan éste tipo de alimentos.

Los datos que van a ser obtenidos con la realización del presente trabajo servirán como contribución al desarrollo de nuevos métodos de conservación de alimentos mediante la aplicación de aceites esenciales y así poder tener una mayor confiabilidad de conservación.

Al realizar la investigación de los aceites esenciales de *Mentha spicata* (Hierbabuena) y *Matricaria chamomilla* (Manzanilla), como inhibidores de hongos se aportarán datos de investigación para aportar con nuevos conocimientos científicos al desarrollo agroindustrial.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

- Evaluar los efectos de los aceites esenciales de *Mentha spicata* (Hierbabuena) y *Matricaria chamomilla* (Manzanilla), en la inhibición de hongos en dos variedades de tomate riñón.

1.4.2. Objetivos específicos

- Evaluar la actividad inhibidora de los aceites esenciales en las dos variedades de tomate riñón.
- Establecer el efecto de aceites esenciales: *Mentha spicata* (Hierbabuena) y *Matricaria chamomilla* (Manzanilla), en la inhibición fúngica.
- Determinar la concentración óptima de los aceites esenciales *Mentha spicata* (Hierbabuena) y *Matricaria chamomilla* (Manzanilla), para inhibición de hongos con fines de conservación.

1.5. Hipótesis

1.5.1. Hipótesis Nula

1. **H₀:** Los tipos de aceite esencial, no influyen en la actividad inhibidora del tomate.
2. **H₀:** El efecto de los aceites esenciales *Mentha spicata* “Hierbabuena” y *Matricaria chamomilla* “Manzanilla”, no influyen en la inhibición fúngica.
3. **H₀:** La concentración óptima de los aceites esenciales *Mentha spicata* “Hierbabuena” y *Matricaria chamomilla* “Manzanilla”, no influye en la actividad de hongos presentes en tomate de postcosecha.

1.5.2. Hipótesis Alternativa

1. **H_a:** Los tipos de aceite esencial, influyen en la actividad inhibidora del tomate.
2. **H_a:** El efecto de los aceites esenciales *Mentha spicata* “Hierbabuena” y *Matricaria chamomilla* “Manzanilla”, influyen en la inhibición fúngica.
3. **H_a:** La concentración óptima de los aceites esenciales *Mentha spicata* “Hierbabuena” y *Matricaria chamomilla* “Manzanilla”, influye en la actividad de hongos presentes en tomate de postcosecha.

1.6. Variables de Estudio

1.6.1. Indicadores

1.6.1.1. Crecimiento radial.

El crecimiento radial de los hongos *Fusarium sp.*, y *Alternaria sp.*, es una técnica para determinar el crecimiento de los hongos, a los cuáles se les aplicó aceites esenciales en varias concentraciones de Manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y de Hierbabuena (*Mentha spicata*), observando su crecimiento cada 24 horas durante siete días mediante el contador de colonias.

1.6.1.2. Evaluación de esporas

La evaluación de esporas se la realizó mediante un contador de Neubauer, para determinar el número de esporas presentes en cada tratamiento, después de haber tenido siete días de incubación, analizado mediante microscopio, junto con un contador de esporas.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Fundamentación Teórica

2.1.1. *Lycopersicon esculentum* Mill. (Tomate Riñón)

2.1.1.1. Generalidades.

El tomate es el cultivo hortícola más importante después de la papa. Tomate y los tomates silvestres son nativos de América del Sur occidental y se distribuyen desde el norte de Ecuador, a través de Perú hasta el norte de Chile, en las Islas Galápagos y también en Colombia y Bolivia. El tomate se ha extendido por todo el mundo y ha experimentado una gran diversificación debido a la gran diversidad de usos y su adaptación a diferentes sistemas de cultivo. (Nuez & Díez, 2013).

2.1.1.2. Origen.

La forma ancestral del tomate cultivado se limitaba inicialmente a la zona de Perú - Ecuador. Después de difundirse norte posiblemente como una mala hierba en la época precolombina no fue domesticado extensivamente hasta que llegó a México, y de allí se difundieron las formas cultivadas (Jenkins, 1948).

2.1.1.3. Información Taxonómica.

Falcones (2001), indica que la taxonomía generalmente aceptada es:

Reino:	Plantae
División:	Agiosperma
Clase:	Dicotiledóneas
Orden:	Solanales (Personatae)
Familia:	Solanaceae
Tribu:	Solaneae
Género:	Lycopersicon
Especie:	esculentum

2.1.1.4. Anatomía y fisiología del tomate cultivado.

El tomate es una planta perenne, de porte arbustiva que se cultiva como anual. Puede desarrollarse de una forma rastrera, semierecta o erecta y su crecimiento es limitado en las variedades determinadas e ilimitadas en las indeterminadas, y puede legar en estas últimas en un año (Vallejo y Estrada, 2004).

Los frutos pueden presentar una morfología y un tamaño bastante diferentes en función de las variedades: más o menos gruesos, aplanados, ligeramente aplanados, redondeados, rectangulares, cilíndricos, elípticos, cordiformes, ovoidales, ovales, en forma de pera, acostillados o lisos (Blancard, 2011).

2.1.1.5. TABLA N° 2 VALORES NUTRITIVOS DE UNA PORCIÓN COMESTIBLE DE 100 GRAMOS DE TOMATES CRUDOS Y ELABORADOS

Nutrimiento	Crudo	Enlatado*	Sopa	Jugo
Agua (%)	94	94	69	94
Calorías	19	21	106	19
Proteína	0.7	0.8	1.8	0.8
Grasa (g)	Trazas	Trazas	0.4	Trazas
Hidratos de carbono (g)	4	4	25	4
Calcio (mg)	12	6**	22	7
Fósforo (mg)	24	19	50	18
Hierro (mg)	0.4	0.5	0.8	0.9
Potasio (mg)	222	217	363	227
Vitamina A (U.I)	822	900	1399	798
Tiamina (mg)	0.05	0.05	0.09	0.05
Riboflavina (mg)	0.04	0.03	0.07	0.03
Niacina (mg)	0.7	0.7	1.6	0.8
Ácido ascórbico (mg)	21	17	15	16

(*) Sólidos y líquidos

(**) Producto al que no se ha agregado sales de calcio

Fuente: *USDA Home and Garden Bulletin*, N°.72.

2.1.1.6. Recolección del tomate.

El tomate se recolecta a mano y se va depositando en cajas, siempre menores de 15Kg. La distribución y recogida de las cajas las puede hacer otro operario, que también las transporte a la nave mediante una carretilla elevadora o transpaleta, existe la posibilidad de que las pequeñas cajas sean apilables y no sea necesario volcarlas en otro contenedor mayor (Roldán, 2011).

Según Roldán (2011), durante las fases de recolección mecanizadas suele ocurrir otro tipo de pérdidas: los daños al producto por golpes. No se aprecian a simple vista, sino que se manifiestan varios días después el suceso. Se pueden clasificar en tres tipos:

- **Golpes o impactos:** de los productos entre sí o con el envase.
- **Compresión:** cuando se comprimen los envases o se llenan demasiado.
- **Abrasión:** daño sobre la piel de los frutos al rozarse contra otros o contra los sistemas de transporte o envases.

Estos daños producen un estrés en el fruto, que acelera su proceso de maduración, por lo que se ablanda y pierde la estructura. Los tejidos dañados generan químicas, que producen mal olor, sabor y apariencia (Roldán, 2011).

2.1.1.7. Hongos en tomates.

Dondequiera que el hombre ha tratado de cultivar tomates que ha tenido que lidiar con numerosas enfermedades. Antes de la introducción de variedades resistentes. El marchitamiento por *Fusarium* fue tal vez el campo de la enfermedad más destructiva de los tomates. Los productores se ven obligados constantemente desde tierra marchitez a campos recientemente talados para el cultivo de tomates (Waltterson, 1986).

En tomate, los hongos producen por otra parte estructuras especializadas, muy resistente a los elementos desfavorables y perfectamente adaptadas para su conservación. Las más corrientes son las *clamidosporas*, esporas con pared gruesa,

que producen por ejemplo *Thielaviopsis basicola*, *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici* y *Fusarium oxysporum f.sp. radicislyopersici*, *Pythium spp.* Los *Pythium*, como los *Phytophthora*, pueden conservarse también en forma de huevos (zoosporas) procedentes de su reproducción sexuada. Más visibles, de dimensiones variables y también eficaces para perpetuarlos, los esclerocios, masas micelánicas densas, caracterizan bastante bien la presencia de ciertos hongos sobre y/o dentro de los tejidos vegetales afectados: *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotinia minor*, *Sclerotium rolfsii*, *Botrytis cinérea*, *Rhizoctonia solani* (Blancard, 2011).

Se distinguen fácilmente los hongos más bien asociados a las raíces y/o al cuello de los tomates (*Olpidium brassicae*, *Pythium spp.*, ciertos *Phytophthora spp.*, *Fusarium oxysporum f. sp. Radicis-lycopersici*, *Pyrenochatea lycopersici*, *Thielaviopsis basicola*) o a los vasos (*F. oxysporum f. sp. Lycopersici*, *Verticillium dahliae...*), mientras que otras se limitan única o esencialmente a los órganos aéreos (hojas, tallos, frutos, flores) (*Phytophthora infestans*, *Leveillula taurica*, *Oidium neolycopersici*, *Stemphylium spp.*, *Alternaria tomatophila*) (Blancard, 2011).

2.1.2. Aceites Esenciales

2.1.2.1. Generalidades.

Desde la Edad Media, los aceites esenciales se han utilizado ampliamente para bactericida, virucida, fungicida, antiparasitario, insecticida, aplicaciones medicinales y cosméticas, especialmente hoy en día en la industria farmacéutica, sanitaria, cosmética, industrias agrícolas y alimentarias. Debido a la modalidad de la extracción, principalmente por destilación de plantas aromáticas, que contienen una variedad de moléculas volátiles tales como los terpenos y terpenoides, componentes aromáticos fenólicos derivados y componentes alifáticos. (Bakkali, Averbeck, Averbeck, & Idaomar, 2007).

Algunos aceites esenciales de plantas, ampliamente utilizados como fragancias y sabores en las industrias de perfumes y de los alimentos, desde hace mucho tiempo

la reputación de repeler insectos. Recientes investigaciones en varios países confirman que algunos aceites esenciales de plantas no sólo repeler insectos, sino que tenga contacto y acciones insecticidas fumigantes contra plagas específicas y acciones fungicidas contra algunos patógenos de plantas importantes (Isman, 2000).

2.1.2.2. Clasificación de aceites esenciales.

Los aceites esenciales se encuentran ampliamente distribuidos en diferentes partes de las plantas: en las hojas (albahaca, eucalipto, hierbabuena, mejorana, menta, romero, salvia, otros), en las raíces (jengibre, sándalo, sasafrás, etc.), en el pericarpio del fruto (cítricos como limón, mandarina, naranja, etc.), en las semillas (anís, comino, otros) en el tallo (canela, entre otros.), en las flores (lavanda, manzanilla, tomillo, rosa, etc.) o en los frutos (perejil, pimienta, entre otros). Se clasifican basándose en criterios como consistencia y origen (Rodríguez Álvarez, Alcaez Meléndez, & Real Cosío, 2012).

2.1.2.3. Serie de terpenos presentes en los aceites esenciales.

Están compuestos por hidrógeno y carbono. Se presentan como polímeros del isopropeno. El isopropeno está formado por cinco carbonos (C_5); es una estructura cíclica. Es la serie más volátil y de menor peso molecular (Márquez, 2004).

Según, Márquez, (2004). Los grupos que más se destacan son:

- **Los monoterpenos**

Es la molécula más pequeña, ya que está formada como máximo por C_{10} - H_{15} .

- **Los sesquiterpenos**

Formados por quince carbonos (C_{15}); al aumentar el número de ciclaciones y de modificaciones hace que aparezcan millares de compuestos relacionados con una centena de esqueletos carbonados como el: α -

zingibereno, alcohol del pachulí, α -cisbergamoteno, longifoleno, camazuleno, β -cariofleno, nerolidol, carotol, viridiferol, entre otros.

- **Los diterpenos**

Son los que contienen más de veinte carbonos (C_{20}); el más abundante es el esclareol.

2.1.2.4. Antibacterianos y antifúngicos propiedades de los aceites esenciales

En los últimos años ha habido un creciente interés en el uso de sustancias naturales, y algunas cuestiones relativas a la seguridad de los compuestos sintéticos han animado a estudios más detallados de los recursos vegetales. Los aceites esenciales, productos olorosos y volátiles del metabolismo secundario de las plantas, tienen una amplia aplicación en la medicina popular, aroma y conservación de alimentos, así como en las industrias de fragancia (Kalemba & Kunicka, 2003).

Se informan factores que influyen en la actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales y los mecanismos de acción de los aceites esenciales en los microorganismos. Este documento ofrece una visión general sobre las sensibilidades de las bacterias humanas y transmitidas por los alimentos y los hongos hacia los diferentes aceites esenciales y sus constituyentes. Se encontraron aceites esenciales de especias y hierbas (tomillo, orégano, menta, canela, salvia y clavo) poseen las propiedades antimicrobianas fuertes entre muchos probado (Kalemba & Kunicka, 2003).

2.1.2.5. Aceite Esencial *Matricaria chamomilla* (MANZANILLA)

TABLA N°1

Planta/Parte	Hierba/Flores secas
Denominación latina	Anthemis nobilis (Manzanilla romana) Matricaria chamomilia (Manzanilla común)
Familia	Compuestas
Nota	Media
Planeta	Luna
Extracción	Destilación

Fuente: Sellar, (2009).

2.1.2.6. Características de la planta.

La manzanilla es una planta medicinal usada más favorecida y mucho en todo el mundo. En lo que se refiere a las características cualitativas-cuantitativas de aceite esencial con una amplia gama de la biodiversidad, varios quimiotipos de manzanilla se caracterizan. Además de la mayor influencia de los factores genéticos, el medio ambiente tiene un efecto importante en la acumulación de aceite esencial y composición. El control ambiental es modificado por ontogenia de la planta de manzanilla, y muchos otros factores fuera del alcance de esta revisión, como la intensidad de la luz, la duración del día, la temperatura, la nutrición, riego, reguladores del crecimiento vegetal, cultivos de tejidos y su transformación transgénica, interacciones intraespecíficas, población dinámica, parásitos, enfermedades, control de plagas, la competencia interespecífica y de gestión de la cosecha también se sabe que afectan el rendimiento de aceite esencial de manzanilla y su composición (Purbrick, 2007).

2.1.2.7. Distribución.

Es nativa de Europa y Asia occidental. Actualmente es de amplia distribución mundial (Ríos R., y otros, 2008).

2.1.2.8. Componentes del aceite.

Anthemis Nobilis: Angélica, metacrílico y tíglico (ácidos) y azuleno (sesquiterpenos); Matricaria chamomilla: cumínico (aldehído) y azuleno (sesquiterpeno) (Sellar, 2008).

2.1.2.9. Propiedades medicinales.

Como antiséptico, cicatrizante, antiinflamatorio, digestivo, diurético, analgésico, espectorante; se utiliza para el tratamiento de eccemas, neuralgias, gastritis y para el lavado de úlceras y heridas. Analgésico, antialérgico, anticonvulsivo, antidepresivo, antiemético, antiinflamatorio, antipurítico, antirreumático, antiséptico, antiespasmódico, carminativo, colagogo, cicatrizante, digestivo, emoliente, emenagogo, febrífugo, hepático, nervino, sedante, esplénico, estomacal, sudorífico, tónico, vermífugo y vulnerario (Sellar, 2008).

2.1.2.10. Precauciones.

Como emenagogo, hay que rehuirlo durante los primeros meses del embarazo (Sellar, 2008).

2.1.2.11. Efectos sobre al ser aplicado en el cuerpo.

Alivia quemaduras, ampollas, heridas inflamadas, úlceras y diviesos. Tal vez sea beneficioso en los casos de dermatitis, acné, herpes, psoriasis, pieles hipersensibles, así como en general en las condiciones alérgicas. Alisa los capilares rotos, mejorando la elasticidad. Es conveniente para una piel seca y con picores, reduce la hinchazón y fortalece los tejidos, excelente para la limpieza de la piel (Sellar, 2008).

2.1.3. Aceite Esencial de *Mentha spicata* o *piperita* L. (Hierbabuena)

Destilado con vapor de las hojas y flores, el aceite de hierbabuena tiene una esencia aguda refrescante que se reconoce por su contenido de mentol. La hierbabuena es un tónico general de pronta acción que se usa tradicionalmente como digestivo y remedio para la dispepsia, la náusea el cólico y la flatulencia y como enjuague bucal y refrescante del aliento. Tiene propiedades antiespasmódicas y analgésicas que son muy útiles para aliviar las molestias del embarazo, el dolor de muelas, el dolor de cabeza y el malestar de sinusitis. Despeja la mente y el proceso mental; sus cualidades revivificantes son estupendas para los casos de mareo o desmayo (Damian, 1997).

Sus propiedades analgésicas funcionan bien en masajes para el dolor muscular y la neuralgia. Su uso externo para dolores de la cabeza o de estómago, también es recomendable. La hierbabuena es antiséptica y buen descongestionante de males respiratorios. Se mezcla bien con otros aceites en tratamientos para catarrros y gripe, además de que proporciona sus propiedades sudoríficas y su capacidad de atacar el malestar. La hierbabuena es parasitocida y repelente de insectos y tiene fuertes efectos como inhalante además de ser un ingrediente adicional en saunas o baños de vapor (Damian, 1997).

2.1.4. Identificación de hongos

2.1.4.1. Caracteres utilizados.

Características como el tipo de esporas y las estructuras que los origina, y la presencia o ausencia de reproducción sexual son utilizadas para definir los principales grupos de los hongos. El estudio de la ontogenia de los anamorfos (fase asexual) y de los teleomorfos (fase sexual) es básica en la identificación, principalmente en lo que se refiere a género y especie. No obstante, pueden utilizarse otros caracteres para complementar o reemplazar a los puramente morfológicos y ayudar a clasificar e identificar este grupo de organismos. Entre ellos destacan el estudio de características fisiológicas (crecimiento a diferentes

temperaturas de incubación, asimilación de sustratos), bioquímicas (detención de actividades enzimáticas), del perfil de metabolitos secundarios (micotoxinas) y otras técnicas moleculares como las que se dedican al estudio de los ácidos nucleicos (Castillo, 2007).

2.1.5. Reino Fungi

Son organismos eucarióticos, en su mayoría pluricelulares; las células forman generalmente un micelio (masa de filamentos ramificados); todos son heterótrofos y su modo de nutrición es saprófito (descomponedores) o parasitario. Recientemente se descubrió que algunos son parientes más cercanos de los animales que las plantas. Los hongos tienen una pared celular que constituye de polisacáridos, están formados por largas fibras ramificadas, hifas, integradas por células, las cuales forman el cuerpo principal del hongo o micelio (Méndez & Monge, 2007).

2.1.5.1. *Fusarium sp.*

Fusarium es uno de los más importantes géneros de hongos micotoxigénicos en alimentos y piensos. Casi todas las especies son capaces de producir micotoxinas de los cuales muchos están bajo la regulación internacional. Conocidos micotoxinas de *Fusarium* son las fumonisinas, zearalenona, deoxinivalenol y tricotecenos adicionales (Thrane, 2014).

Precisamente, es en la especie *Fusarium oxysporum* donde la mayoría de los taxónomos coinciden ya que, con escasas variaciones, afirman que la sección una de las originalmente creadas por Wollenweber y Reinking (1935) (Ocaña, 2002).

2.1.5.2. *Alternaria sp.*

Alternaria es un género de hongos común que causa daño pre y post-cosecha a los productos agrícolas, incluyendo granos de cereales, frutas y verduras. Además de estropear una amplia variedad de alimentos, varias especies de *Alternaria* son capaces de producir metabolitos secundarios considerados como ambos fitotoxinas, que desempeñan un papel importante en la patogénesis de plantas, y micotoxinas,

que pueden ser perjudiciales para los seres humanos y animales (Patriarca, Vaamonde, & Pinto, 2014).

Es un género de hongos ubicuos que incluye sapróbico, endófitos y especies patógenas. Se asocia con una amplia variedad de sustratos, incluyendo semillas, plantas, productos agrícolas, animales, el suelo y la atmósfera. Las especies de *Alternaria* se conocen como patógenos de las plantas graves, causando grandes pérdidas en una amplia gama de cultivos. Debido a los efectos negativos para la salud significativos de *Alternaria* en los seres humanos y su entorno, una correcta identificación y rápida de las especies de *Alternaria* sería de gran valor para los investigadores, los micólogos médicos y el público en general (Woudenberg, Groenewald, Binder, & Crous, 2013).

CAPITULO III

3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Ubicación y Característica de la Investigación

Para el presente trabajo se utilizaron materiales y equipos adquiridos de los laboratorios de Química Básica, Microbiología y Biotecnología, de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

3.1.1. Preparación del medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA)

MATERIALES	EQUIPOS	REACTIVOS
• Matraz de Erlenmeyer • Tubos de ensayo • Varilla • Cajas Petri desechables • Espátula • Algodón • Papel aluminio • Marcador indeleble	• Autoclave • Refrigerador • Microondas • Balanza	• PDA • Sulfato de Estreptomicina “GM”

Elaborado por: Sabando M. (2015)

3.1.2. Aislamiento de hongos en tomate riñón

MATERIALES	EQUIPOS	REACTIVOS
• Cajas Petri • Tubos de ensayo • Marcador indelible • Probeta • Papel toalla • Algodón • Cinta parafilm • Bisturí • Mechero • Pinza • Micropipetas • Puntas estériles	• Cámara de flujo laminar • Incubadora	• PDA • Hipoclorito al 3% • Alcohol

Elaborado por: Sabando M. (2015)

3.1.3. Inhibición con los aceites esencial

MATERIALES	EQUIPOS	REACTIVOS
• Cajas Petri de vidrio • Asa de siembra • Marcador indelible • Pipetas pasteur • Algodón • Cinta parafilm • Bisturí • Mechero • Micro pipetas • Puntas estériles	• Cámara de flujo laminar • Incubadora	• PDA • Tween 20 • Alcohol • A.E Manzanilla • A.E Hierbabuena

Elaborado por: Sabando M. (2015)

3.1.4. Control de crecimiento radial

MATERIALES	EQUIPOS	REACTIVOS
• Atomizador • Algodón • Marcador indelible	• Contador de colonia • Incubadora	• Alcohol

Elaborado por: Sabando M. (2015)

3.1.5. Control de evaluación de esporas

MATERIALES	EQUIPOS	REACTIVOS
• Microtubos eppendorf • Probeta de 10 ml • Marcador indeleble • Pipetas pasteur • Gasa estéril • Mechero • Micro pipetas • Puntas estériles • Vaso de precipitación	• Contado de Neubauer • Agitador Vórtex • Microscopio	• Tween 20 • Agua destilada • Alcohol

Elaborado por: Sabando M. (2015)

3.1. Metodología

Para ésta investigación se utilizaron aceites esenciales de Hierbabuena y Manzanilla, procedentes del laboratorio ISABRUK BOTANIK S.A de la ciudad de Ambato Provincia de Tungurahua, el cual cuenta con cultivos orgánicos de las plantas para la elaboración de los aceites esenciales.

En cuanto al aislamiento de hongos se preparó el sustrato de PDA (Papa Dextrosa Agar) diluyendo 39 g en un litro de agua destilada del cual se lo colocó en el microondas, disolviéndole 0,01g del antibiótico Sulfato de Estreptomicina "GM" en 1,5 ml de alcohol que se le adhirió al PDA.

Los tomates que se utilizaron para la investigación fueron de la variedades tomate riñón (tomate fortuna y chonto), procedentes de la ciudad de Latacunga, previamente lavados y desinfectados con hipoclorito de sodio al 3% durante 2 min, se le retiró parte del epicarpio con el bisturí para tomar la muestra del mesocarpio y colocarlo en las cajas petri desechables dispensadas con PDA, dejando las en la incubadora a una temperatura de 24°C de 3 a 5 días, para la reproducción de los hongos.

Para determinar el afecto anti fúngico de esta solución, se utilizaron concentraciones de aceites esenciales de hierbabuena y manzanilla, en 100 µl, 200 µl y 400 µl, Tween 20 y PDA.

El proceso de reproducción de *Fusarium sp.* y *Altermaria sp.*, se realizó repiques de los hongos obtenidos de las muestras de tomate en tubos de ensayos con PDA almacenados en la incubadora por varios días, se identificaron en el microscopio para obtener los hongos principales para los tratamientos, los cuáles con una pipeta pasteur se hicieron círculos para colocarlos con los aceites esenciales, para la evaluación de su actividad inhibidora se realizó el control diario del crecimiento radial y después de siete días la evaluación de las esporas presentes en cada tratamiento.

Para establecer diferencias entre los niveles de los tratamientos en el estudio incluyen dos tipos de aceites esenciales y el porcentaje de dilución en su aplicación como inhibidores de hongos en tomate, el primer y segundo factor presentan 2 niveles mientras que el tercer factor presenta tres niveles, se realizará dos repeticiones por cada tratamiento.

Para el resultado de los datos obtenidos se utilizó el paquete estadístico StatsGraphics Centurión de la Universidad de Massachusetts, y para la separación de medias de los niveles de los tratamientos se utilizará la prueba de significación de TUKEY ($p < 0.05$).

3.2. Ubicación de la Investigación

El presente trabajo de investigación se realizó en los Laboratorios de Microbiología y Biotecnología y Química Básica de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

3.3. Ubicación Geográfica del Cantón Quevedo

Altitud:	850 y 85 m.s.n.m.
Longitud:	W 79° 30' / W 79° 15'
Latitud:	S 1° 10' / S 1° 0'
T° media:	26° C

Fuente: IGM (Instituto Geográfico Militar)

3.4. Factores de Estudio

CUADRO N°1: FACTORES DE ESTUDIO QUE INTERVIENEN EN EL EFECTO DE LOS ACEITES ESENCIALES DE MANZANILLA Y DE HIERBABUENA EN LA INHIBICIÓN DE HONGOS EN TOMATE

FACTORES DE ESTUDIO	SIMBOLOGÍA	DESCRIPCIÓN
Factor A: Variedad de tomate	a ₀	Tomate riñón (fortuna)
	a ₁	Tomate riñón (chonto)
Factor B: Aceites Esenciales	b ₀	A.E Manzanilla
	b ₁	A.E Hierbabuena
Factor C: Concentraciones	c ₀	100 µl
	c ₁	200 µl
	c ₂	400 µl

Elaborado por: Sabando, M. (2015)

3.4.1. Diseño experimental

Se trabajó con un Diseño Completamente al Azar, dos repeticiones con arreglo factorial A x B x C, donde A, representa las variedades de tomate utilizados en la investigación, B el tipo de aceites esenciales (manzanilla y hierbabuena), y el C las concentraciones utilizadas (100 µl, 200 µl y 400 µl).

3.4.2. Cuadro de tratamientos

CUADRO N°2: COMBINACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS PROPUESTOS PARA EL DISEÑO EXPERIMENTAL DEL EFECTO DEL ACEITE ESENCIAL PARA LA INHIBICIÓN DE HONGOS EN TOMATE.

TRATAMIENTOS	SIMBOLOGÍA	DESCRIPCIÓN
T1	$a_0b_0c_0$	Tomate riñón (F) + A.E Manzanilla + 100 μ l
T2	$a_0b_0c_1$	Tomate riñón (F) + A.E Manzanilla + 200 μ l
T3	$a_0b_0c_2$	Tomate riñón (F) + A.E Manzanilla + 400 μ l
T4	$a_0b_1c_0$	Tomate riñón (F) + A.E Hierbabuena + 100 μ l
T5	$a_0b_1c_1$	Tomate riñón (F) + A.E Hierbabuena + 200 μ l
T6	$a_0b_1c_2$	Tomate riñón (F)+ A.E Hierbabuena + 400 μ l
T7	$a_1b_0c_0$	Tomate riñón (Ch) + A.E Manzanilla + 100 μ l
T8	$a_1b_0c_1$	Tomate riñón (Ch) + A.E Manzanilla + 200 μ l
T9	$a_1b_0c_2$	Tomate riñón (Ch) + A.E Manzanilla + 400 μ l
T10	$a_1b_1c_0$	Tomate riñón (Ch) + A.E Hierbabuena + 100 μ l
T11	$a_1b_1c_1$	Tomate riñón (Ch) + A.E Hierbabuena + 200 μ l
T12	$a_1b_1c_2$	Tomate riñón (Ch) + A.E Hierbabuena + 400 μ l

Elaborado por: Sabando M. (2015).

3.4.3. Características del experimento

Tratamientos: 12

Repeticiones: 2

Unidades Experimentales: 24

3.4.4. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se desarrolló mediante el análisis de varianza (ADEVA), técnica empleada para analizar la variación total de los datos, descomponiéndolas en porciones significativas e independientes, atribuibles a cada una de las fuentes de variabilidad presentes y la variación aleatoria.

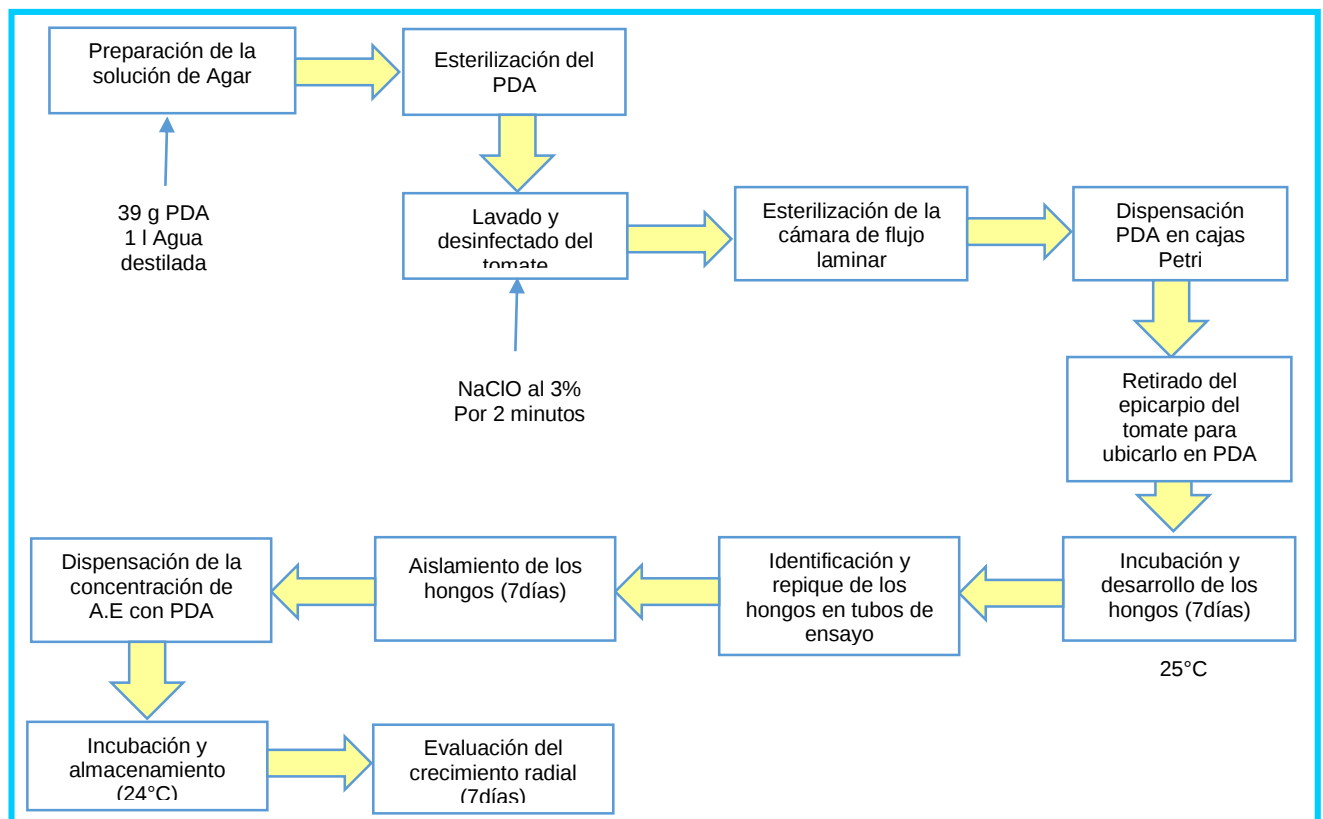
3.4.4.1. Esquema de análisis de varianza.

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD
FACTOR A (Tipos de tomates)	1
FACTOR B (Aceites Esenciales)	1
FACTOR C (Concentraciones)	2
REPLICAS	1
A*B	1
A*C	2
B*C	2
A*B*C	2
Error experimental	11
TOTAL	23

Elaborado por: Sabando, M. (2015)

3.4.5. Diagrama de bloques de aislamiento de hongos

Procedimiento para aislamiento de hongos en tomate de postcosecha se detalla a continuación:



Elaborado por: Sabando M: (2015)

3.4.5.1. Descripción de aislamiento de hongos

- **Preparación de la solución de agar:** Se pesaron 39 g de PDA (Potato Dextrosa Agar), en un litro de agua destilada, de lo cual se disuelve poco a poco el PDA en el agua procurando que no queden grumos, adicionando Sulfato de Estreptomicina"GM" con alcohol como antibiótico al 0.1% y diluyéndolo durante varios minutos en el microondas y dejándolo enfriar.
- **Esterilización del PDA:** Se distribuyó en varios envases de vidrio para una mejor manipulación y distribución para llevarlo a esterilizar en la autoclave durante tres horas, luego de estar esterilizado se almacena en refrigeración para su conservación.
- **Lavado y desinfectado del tomate:** La materia prima se desinfectó con hipoclorito de sodio al 3% durante dos minutos y lavando tres veces con agua destilada estéril para retirar residuos del NaClO, secando el tomate con papel toalla estéril.
- **Esterilización de la cámara de flujo laminar:** La cámara de flujo laminar se desinfectó con alcohol y algodón antes y después de su uso para evitar cualquier tipo de contaminación al momento de trabajar en ella.
- **Dispensación del PDA en cajas Petri:** Se colocaron las cajas Petri esterilizadas en la cámara de flujo laminar dispensadas en cada una de ellas 10 ml de PDA, donde se dejó solidificar la solución por varios minutos.
- **Retirado del epicarpio del tomate:** Se escogió la zona del tomate afectada por alguna enfermedad causada por hongo para retirar su epicarpio, con un bisturí, se le hicieron pequeños cortes para colocarlos en las cajas con la solución ya solidificada y con una pinza se ubicaron cinco pedazos pequeños por caja sellándolas con cinta parafilm y rotulando.
- **Incubación y desarrollo de los hongos:** Las piezas de tomate, se almacenaron en la incubadora a 25°C durante siete días, teniendo un control diario, verificando el desarrollo de los hongos.
- **Identificación y repique de los hongos en tubos de ensayo:** Una vez obtenido el desarrollo de los hongos se repicaron en tubos de ensayo con

solución de PDA con finalidad de tener un previo aislamiento y desarrollo de los hongos, almacenándolos en la incubadora a 25°C por varios días, luego se tomaron pequeñas muestras de los hongos que fueron identificados en el microscopio.

- **Aislamiento de los hongos:** Identificados los hongos, se tomaron muestras de los tubos de ensayo, que se colocaron en cajas Petri con PDA para un mejor desarrollo, almacenándolos en la incubadora a 25°C.
- **Dispensación de la concentración de aceite esencial en PDA:** Desarrollados los hongos, se prepararon las cajas Petri previamente esterilizadas, donde se colocaron las diferentes concentraciones de los aceites esenciales adjuntando el PDA y tween 20, mezclándolos suavemente hasta tener una solución homogénea, con pipetas pasteur se hicieron pequeños círculos en el área del hongo para ser colocados en las cajas petri, se sellaron las cajas con cinta parafilm y se las rotuló según los respectivos tratamientos.
- **Evaluación del crecimiento radial de los hongos:** Se tomaron mediciones del hongo sembrado durante siete días observando si existió o no la inhibición de los aceites esenciales en *Fusarium sp.* y *Alternaria sp.*
- **Evaluación del porcentaje de esporas:** Se tomaron muestras de las cajas petri adicionadas con agua estéril, colocando el líquido en microtubos eppendorff, agitadas en un vórtex, para luego contar las esporas en el contador de Neubauer donde fueron observadas mediante el microscopio.

CAPITULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1. Resultado con respecto a los factores de estudio

CUADRO N°3: ANALISIS DE VARIANZA PARA CRECIMIENTO RADIAL

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Efectos Principales					
A:Factor A	407,633	1	407,633	14,70	0,0028
B:Factor B	2390,21	1	2390,21	86,17	0,0000
C:Factor C	40,6353	2	20,3176	0,73	0,5027
D:REPLICAS	14,5237	1	14,5237	0,52	0,4844
INTERACCIONES					
AB	407,633	1	407,633	14,70	0,0028
AC	47,1628	2	23,5814	0,85	0,4536
BC	40,6353	2	20,3176	0,73	0,5027
ABC	47,1628	2	23,5814	0,85	0,4536
RESIDUOS	305,104	11	27,7367		
TOTAL	3700,7	23			

(P < 0.05)

Elaborado por: Sabando, M. (2015)

El cuadro N°3 indica análisis de varianza (ADEVA) para Crecimiento Radial: en el Factor A (Tipos de tomates) y en el Factor B (Tipos de aceites esenciales) y AB (Variedad de tomates y Tipos de aceites esenciales), existió diferencia significativa., en el Factor C (Concentraciones de aceite esencial), factores AC (Variedad de tomates y Concentraciones de aceites esenciales), BC (Tipos de aceites esenciales y Concentraciones de A.E) y en las interacciones ABC no existió diferencia significativa. En lo que respecta a las réplicas no se encontró diferencia significativa por lo que explica que existió normalidad en la toma de datos y es confiable el análisis estadístico.

CUADRO N°4: ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EVALUACIÓN DE ESPORAS

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Efectos Principales					
A:Factor A	1130.8	1	1130.8	11007.00	0.0000
B:Factor B	1865.25	1	1865.25	18156.00	0.0000
C:Factor C	81.4258	2	40.7129	396.29	0.0000
D:REPETICIONES	0.370017	1	0.370017	3.60	0.0843
INTERACCIONES					
AB	1114.93	1	1114.93	10852.54	0.0000
AC	7.53081	2	3.7654	36.65	0.0000
BC	77.9268	2	38.9634	379.26	0.0000
ABC	12.5418	2	6.2709	61.04	0.0000
RESIDUOS	1.13008	11	0.102735		
TOTAL	4291.92	23			

(P < 0.05)

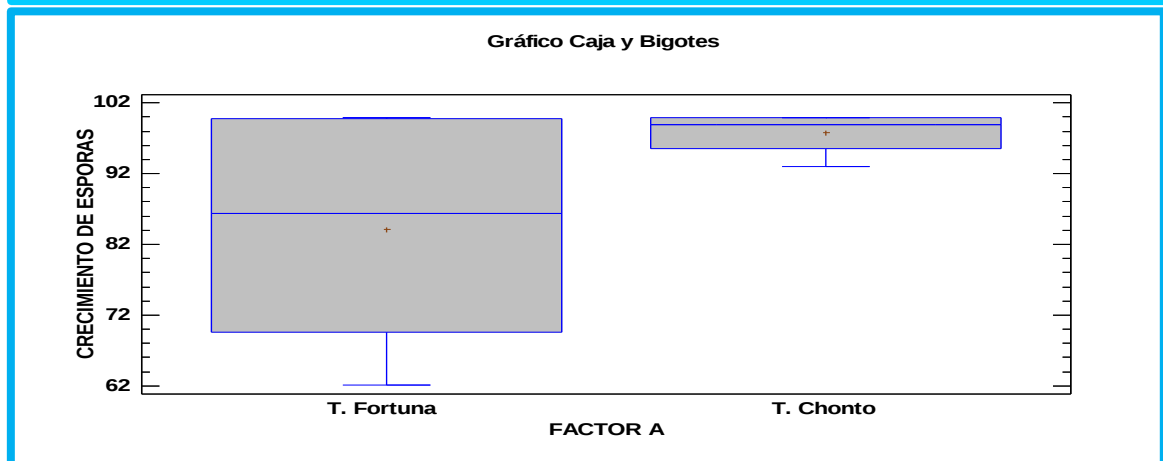
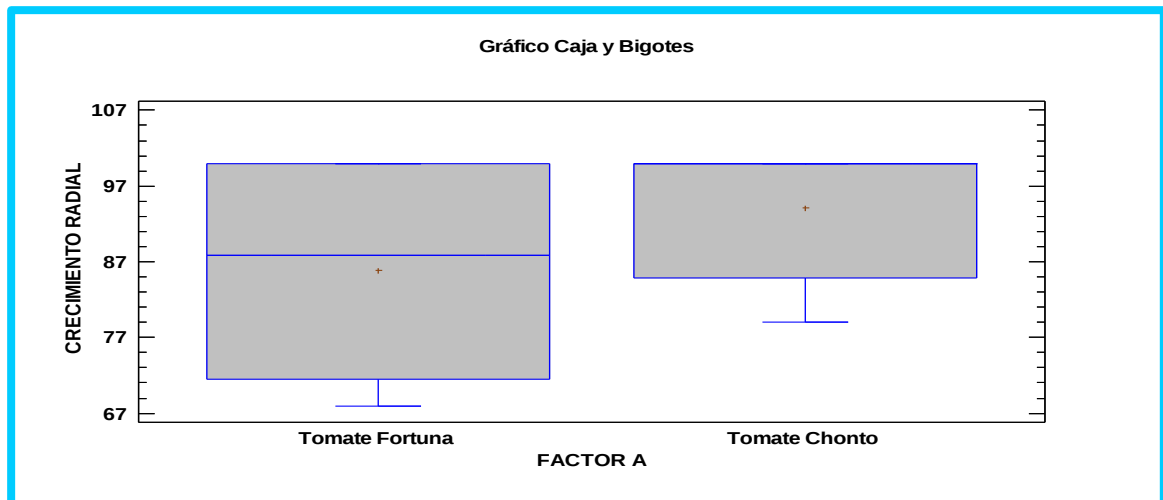
Elaborado por: Sabando, M. (2015)

El cuadro N°4 del análisis de varianza (ADEVA) para la evaluación de esporas: existió diferencia significativa, en el Factor A (Tipos de tomates), Factor B (aceites esenciales de Manzanilla y Hierbabuena), Factor C (Concentraciones de aceites esenciales), AB (Variedad de tomates y Tipos de aceites esenciales), AC (Variedad de tomates y Concentraciones de A.E), BC (Tipos de A.E y Concentraciones de A.E) y en las Interacciones ABC existió diferencia significativa; mientras que en las réplicas no se encontró diferencia significativa por lo que explica que existe normalidad en la toma de datos y es confiable el análisis estadístico.

4.1.2. Resultados con respecto a los Factores de Estudio (prueba de significación de Tukey), en el crecimiento radial de los hongos y evaluación de esporas

4.1.2.1. Resultados con respecto al Factor A (Tipos de tomates).

GRÁFICO N°1: MUESTRA LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS DEL FACTOR A MEDIANTE LA PRUEBA DE TUKEY ($P < 0,05$), LA CUAL DETERMINA DS ENTRE LAS DOS VARIEDADES DE TOMATE RIÑÓN



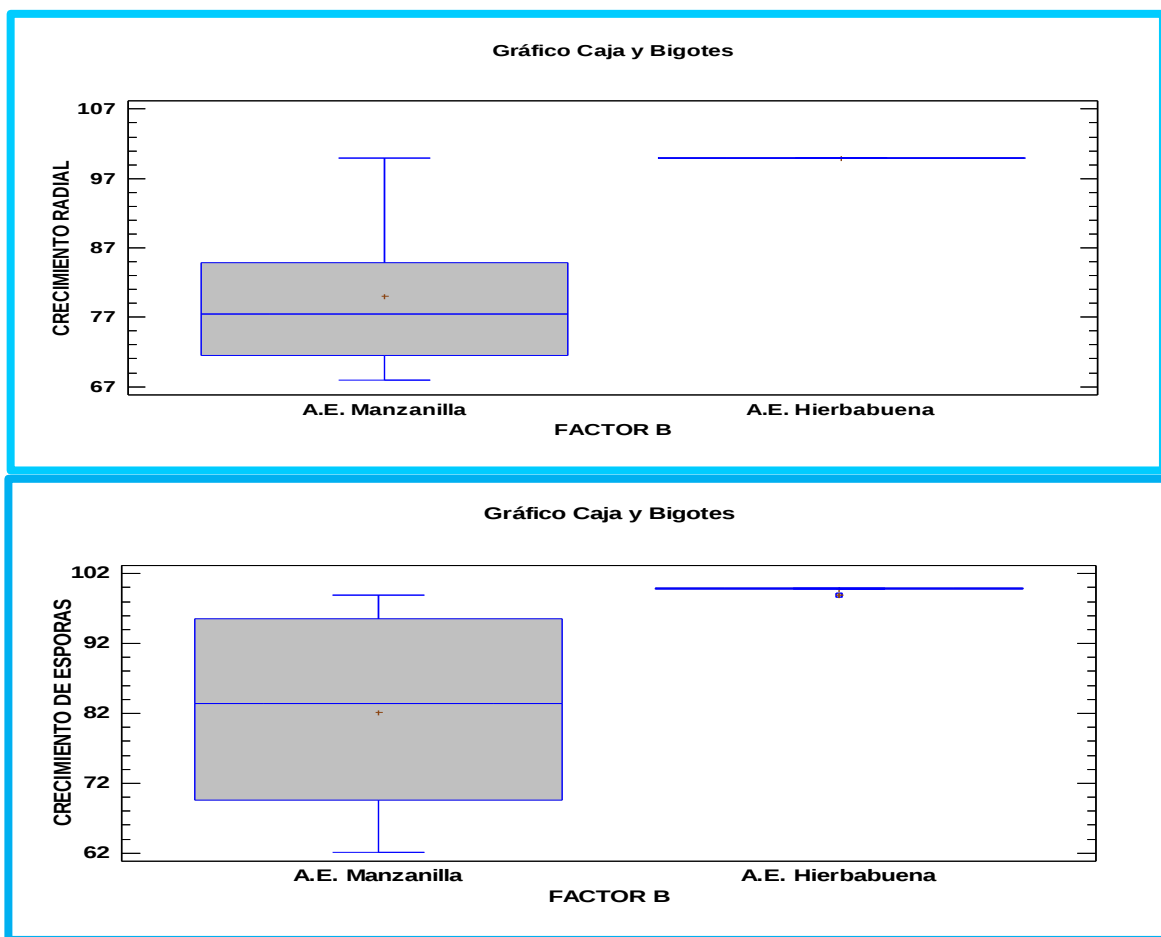
Elaborado por: Sabando, M. (2015)

En el gráfico N°1 muestra la separación de medias de los niveles del factor A. Se encontró diferencia significativa en las dos variables estudiadas por lo que: En Crecimiento Radial, se observó el valor más alto en a_1 (Tomate Fortuna) (94,14); y

en la Evaluación de esporas se encontró el valor más alto en a_1 (Tomate Chonto) (95,5).

4.1.2.2. Resultados con respecto al Factor B (aceites esenciales Manzanilla y Hierbabuena).

GRÁFICO N°2 : MUESTRA LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS DEL FACTOR B MEDIANTE LA PRUEBA DE TUKEY ($P < 0,05$), LA CUAL DETERMINA DS ENTRE LOS TIPOS DE ACEITES ESENCIALES

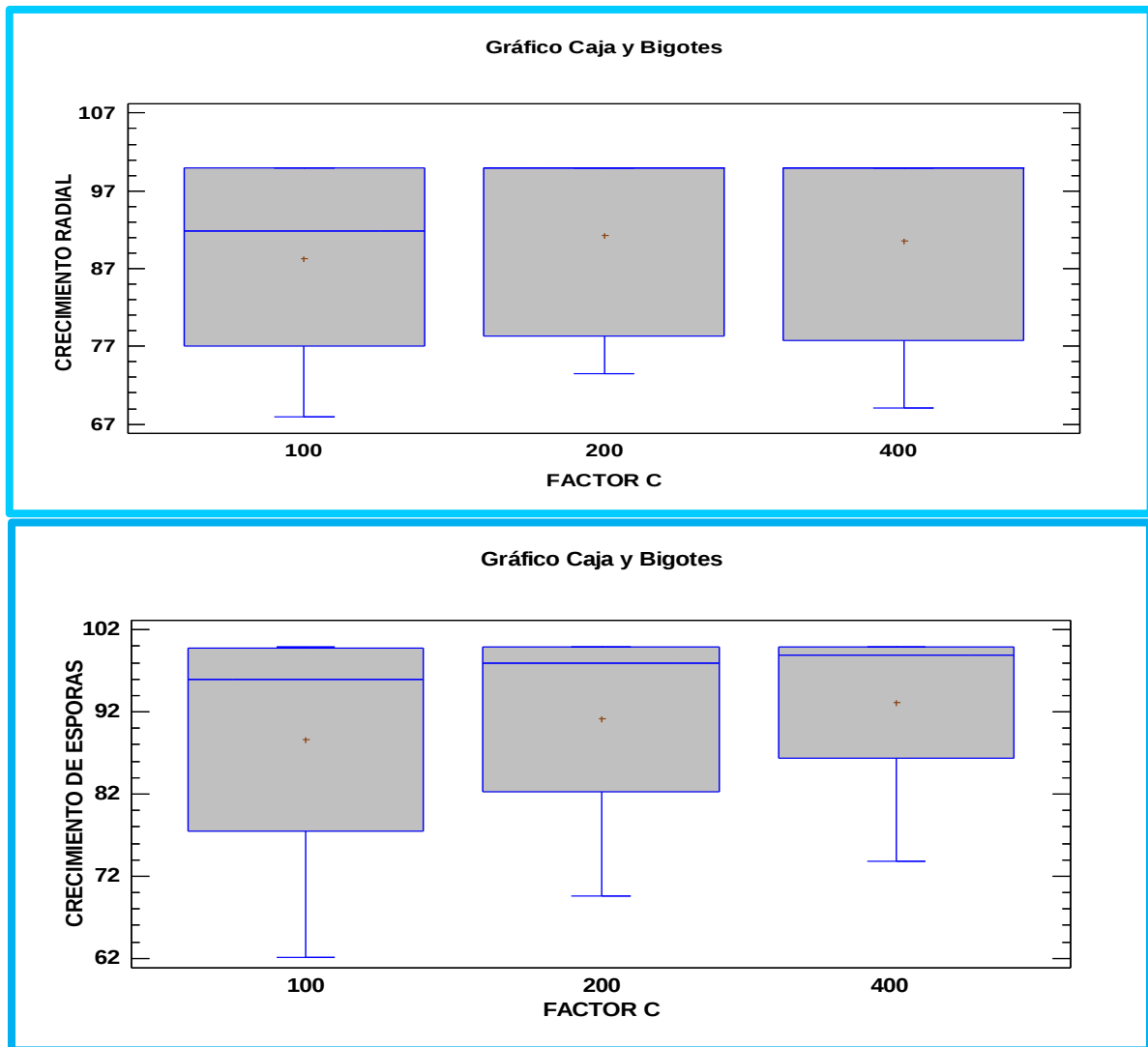


Elaborado por: Sabando, M. (2015)

El gráfico N°2 muestra los valores de Tukey ($p < 0.05$). Se encontró diferencia significativa en: Crecimiento Radial, presentó los valores más altos en b_1 (Aceite Esencial de Hierbabuena) (100) y en la Evaluación de Esporas en b_1 (Aceite Esencial de Hierbabuena) (99,78).

4.1.2.3. Resultados con respecto al Factor C (Concentraciones de Aceites Esenciales)

GRÁFICO N°3: MUESTRA LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS DEL FACTOR C MEDIANTE LA PRUEBA DE TUKEY ($P < 0,05$), LA CUAL DETERMINA DS ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE ACEITE ESENCIAL (100 μ L, 200 μ L Y 400 μ L)



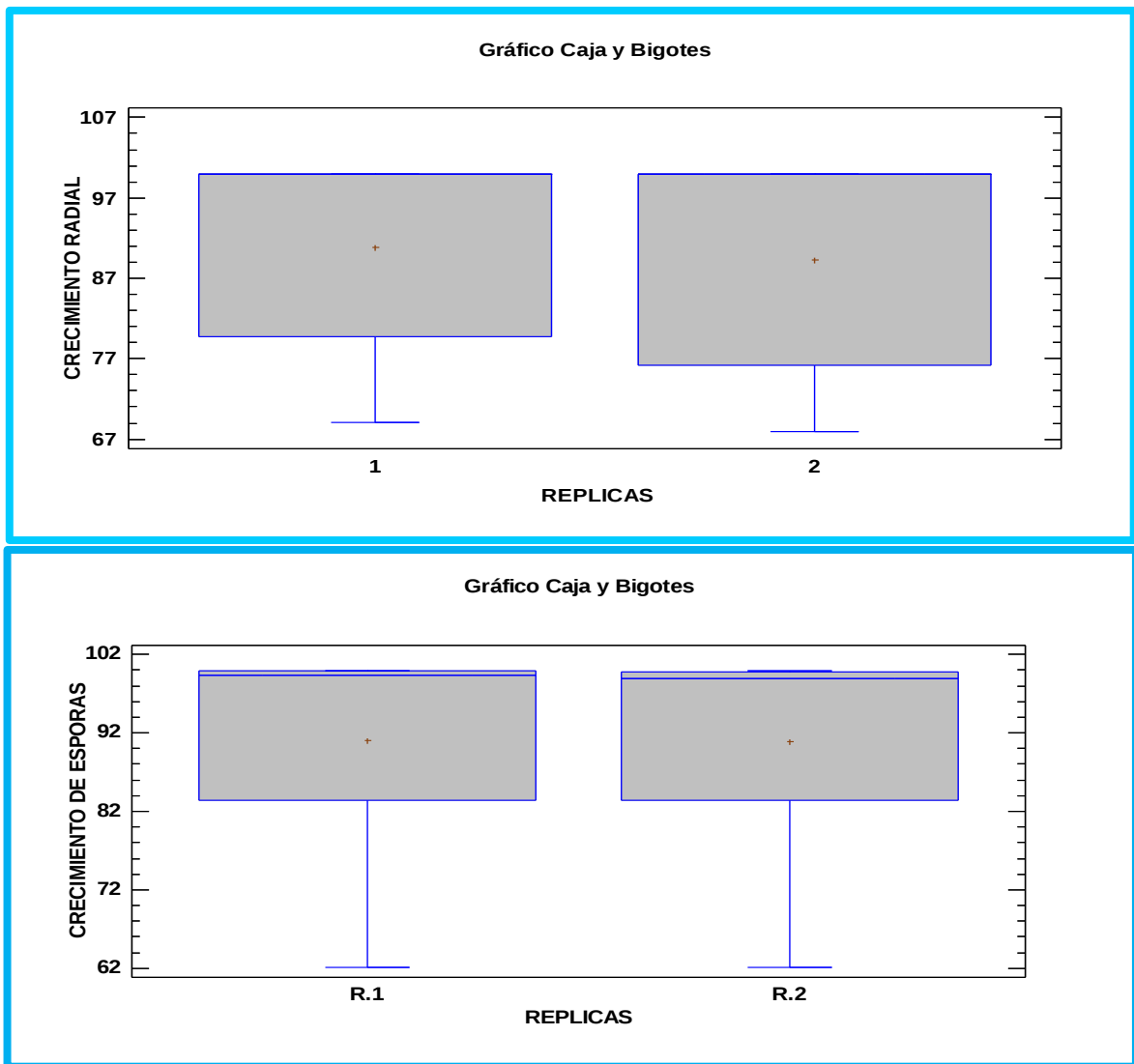
Elaborado por: Sabando, M. (2015)

El gráfico N°3 muestra los valores de Tukey ($p < 0.05$). No se encontró diferencia significativa en Crecimiento Radial siendo los valores estadísticamente iguales, c_0 (100 μ L) (88,22), c_1 (200 μ L) (91,26) y c_2 (400 μ L) (90,56). En la Evaluación Esporas

existió diferencia significativa siendo el nivel más alto C₂ (Concentración de 400 µl) (93,08).

4.1.2.4. Resultados con respecto a las Réplicas

GRÁFICO N°4: MUESTRA LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS DE LAS RÉPLICAS MEDIANTE LA PRUEBA DE TUKEY (P<0,05), LA CUAL DETERMINA DS ENTRE LAS 2 REPETICIONES



Elaborado por: Sabando, M. (2015)

El gráfico N°4 muestra los valores de Tukey ($p < 0.05$). No existió diferencia significativa entre las réplicas de los factores de Crecimiento Radial (89,24) (90,79) y Evaluación de Esporas (90,84) (91,09).

4.1.2.5. Resultados con respecto a la Interacción ABC

CUADRO N°5: PRUEBA DE TUKEY POR INTERACCIÓN ABC (TIPOS DE TOMATES*TIPOS DE ACEITES ESENCIALES*CONCENTRACIONES DE ACEITES ESENCIALES)

Factor A*B*C			Crecimiento Radial	Crecimiento de Esporas
a ₀	b ₀	C ₀	A	A
a ₀	b ₀	C ₁	AB	B
a ₀	b ₀	C ₂	A	C
a ₀	b ₁	C ₀	ABC	F
a ₀	b ₁	C ₁	ABC	F
a ₀	b ₁	C ₂	BC	F
a ₁	b ₀	C ₀	C	D
a ₁	b ₀	C ₁	C	E
a ₁	b ₀	C ₂	C	F
a ₁	b ₁	C ₀	C	F
a ₁	b ₁	C ₁	C	F
a ₁	b ₁	C ₂	C	F

Elaborado por: Sabando, M. (2015)

El CUADRO N°5 muestra los valores de Tukey ($p < 0.05$). Se encontró diferencia significativa en el crecimiento radial, se observó que los valores más altos fueron a₀b₁c₀ (Tomate Fortuna* A.E Hierbabuena * 100 µl), a₀b₁c₁ (Tomate Fortuna * A.E Hierbabuena * 200 µl), a₀b₁c₂ (Tomate Fortuna * A.E Hierbabuena * 400 µl), a₁b₁c₀ (Tomate Chonto * A.E Hierbabuena * 100 µl), a₁b₁c₁ (Tomate Chonto * A.E Hierbabuena * 200 µl), a₁b₁c₂ (Tomate Chonto * A.E Hierbabuena * 400 µl), valores estadísticamente iguales, y el valor más bajo se obtuvo en a₀b₀c₀ (Tomate Fortuna * A.E Manzanilla * 100 µl) y a₀b₀c₂ (Tomate Fortuna * A.E Manzanilla * 200 µl). Mientras que en la evaluación de esporas se observó diferencia significativa entre los factores siendo los valores más altos a₀b₁c₀ (Tomate Fortuna * A.E Hierbabuena * 100 µl), a₀b₁c₁ (Tomate Fortuna * A.E Hierbabuena * 200 µl), a₀b₁c₂ (Tomate

Fortuna * A.E Hierbabuena * 400 μ l), $a_1b_1c_0$ (Tomate Chonto * A.E Hierbabuena * 100 μ l), $a_1b_1c_1$ (Tomate Chonto * A.E Hierbabuena * 200 μ l), $a_1b_1c_2$ (Tomate Chonto * A.E Hierbabuena * 400 μ l), siendo valores estadísticamente iguales y el valor más bajo fue $a_0b_0c_0$ (Tomate Fortuna * A.E Manzanilla * 100 μ l).

4.2. Discusión

4.2.1. Discusión de los resultados del crecimiento radial y evaluación de esporas en hongos *Fusarium sp.*, y *Alternari sp.*

4.2.1.1. Discusión con respecto al Factor A (Variedad de tomates) en crecimiento radial.

En lo que respecta a los resultados del Factor A: (Variedad de tomates) en Crecimiento Radial, presentó el valor más alto a_1 (94,14) (Tomate chonto) frente a a_0 (85,89) (Tomate fortuna), siendo valores superiores según, Salazar, y otros, (2011), (57,74 a 42,85) en su investigación Efectividad de Aislamientos De *Trichoderma Spp.* En El Control De La *Fusariosis* Del Tomate En Condiciones In Vitro E In Vivo, según estos investigadores los valores expuestos son aceptables y aportan a una nueva técnica de conservación de los alimento ya que reducirían el uso de fungicidas en los tomates de post cosecha.

4.2.1.2. Discusión con respecto al Factor A (Variedad de tomates), En evaluación de esporas.

En lo que respecta a los resultados del Factor A: (Tipos de tomates) en la evaluación de esporas presentó el valor más bajo el nivel a_0 (84,10) (Tomate Fortuna), frente al nivel a_1 (97,83) (Tomate Chonto), siendo valores superiores y fuera de rango según Michel Aceves, y otros, (2008) (73,9), en su investigación titulada Producción masiva de *Trichoderma harzianum Rifai* en diferentes sustratos orgánicos, ya que un alto porcentaje de esporas en el alimento afecta la salud de quien lo consume.

4.2.1.3. Discusión con respecto al Factor B (Tipos de aceites esenciales), en crecimiento radial.

En lo que respecta a los resultados del Factor B: (Tipos de aceites esenciales) en Crecimiento Radial de los hongos presentó el valor más alto b_1 (A.E hierbabuena) (100), el mismo que se encuentra dentro del rango según Duarte, y otros, (2013) y el valor más bajo fue b_0 (80,40) (A.E Manzanilla), el cual representó un valor inferior

según Duarte, Pino, y otros, (2013) (100%), en la investigación Efecto de cuatro aceites esenciales sobre *Fusarium spp*, valores aceptables según los investigadores, ya que los aceites esenciales resultan inocuos para el ambiente y los consumidores, por lo que se incrementó el interés de su aplicación para el manejo de enfermedades en campo y post cosecha, debido al efecto que exhiben sobre los fitopatógenos.

4.2.1.4. Discusión con respecto al Factor B (Tipos de aceites esenciales), en evaluación de esporas.

En lo que respecta a los resultados del Factor B: (Tipos de aceites esenciales) en la evaluación de esporas presentó el valor más bajo el nivel b_0 (82,15) (A.E Manzanilla), siendo inferior a lo que presento Velásquez, y otros (2014), frente al nivel b_1 (A.E Hierbabuena) (99,78), valor superior a lo que obtuvo Velásquez, y otros (2014) (98,5), en su investigación Evaluación in vitro de la actividad fungistática del aceite esencial de mandarina sobre el crecimiento de *Penicillium sp*, valores aceptables ya que los aceites esenciales pueden ser utilizados sobre cualquier alimento y normalmente son considerados como sustancias seguras para el consumo humano (generally reconised as safe -GRAS) (Kabara, 1991).

4.2.1.5. Discusión con respecto al Factor C (Concentraciones de aceites esenciales), en crecimiento radial.

En lo que respecta a los resultados del Factor C: (Concentraciones de aceites esenciales) en Crecimiento Radial presentó el valor más bajo c_0 (100 μ L) (88,22) el cual representó un valor inferior según y frente a c_1 (200 μ L) (91,26), valores inferiores y aceptables de concentraciones mínimas inhibitorias, ya que la acción anti fúngica de los aceites esenciales inhibieron los hongos, según Duarte, y otros, (2013) (10 ml = 10000 μ l) (100%), en su investigación Efecto in vitro de aceites esenciales sobre *Alternaria solani* Sorauer.

4.2.1.6. Discusión con respecto al Factor C (Concentraciones de aceites esenciales), en evaluación de esporas.

En lo que respecta a los resultados del Factor C: (Concentraciones de aceites esenciales) en la evaluación de esporas presentó el valor más bajo el nivel c_0 (88,59) (100 μ l), frente al nivel c_2 (93,08) (400 μ l), valores inferiores de inhibición y superior en concentración, siendo aceptables por su porcentaje alto de inhibición de esporas, según Velásquez, y otros (2014) (98,5) (50 ppm = 0,0138 μ l) en su investigación Evaluación in vitro de la actividad fungistática del aceite esencial de mandarina sobre el crecimiento de *Penicillium sp.*

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

5.1.1. Factor A (Tipos de tomate riñón)

- En lo referente al crecimiento radial: existió diferencia significativa entre los factores, por lo que se acepta la hipótesis alternativa, y se concluye que el valor más alto lo presentó a_1 (Tomate chonto) (94,14) y el más bajo fue a_0 (Tomate fortuna) (85,89), valores inferiores a los mencionados por Salazar, y otros, (2011).
- En cuanto a la evaluación de esporas: se observó diferencia significativa y se aceptó la hipótesis alternativa, siendo el valor más alto a_1 (Tomate Chonto) (97,83) y el valor más bajo a_0 (Tomate Fortuna) (84,10), valores superiores según Michel Aceves, y otros, (2008).

5.1.2. Factor B (Tipos de aceites esenciales)

- En crecimiento radial: existió diferencia significativa entre los tipos de aceites esenciales utilizados, aceptando la hipótesis alternativa, siendo el valor más alto b_1 (100) (A.E Hierbabuena), y el más bajo b_0 (80,40) (A.E Manzanilla), lo cual representan valores dentro de los rangos según Duarte, y otros, (2013).
- En la evaluación de esporas: existió diferencia significativa aceptando la hipótesis alternativa, siendo el nivel más alto b_1 (99,78) (A.E Hierbabuena), valor superior según Velásquez, y otros (2014) y el nivel más bajo b_0 (82,15) (A.E Manzanilla), valor inferior según Velásquez, y otros (2014)

5.1.3. Factor C (Concentraciones de aceites esenciales)

- Crecimiento radial: no existió diferencia significativa entre la concentraciones de aceites esenciales, con lo que se acepta la hipótesis nula siendo los valores estadísticamente iguales C_0 (100 μ l) (88,22), C_2 (400 μ l) (90,56) y C_1

(200 μ l) (91,26), valores que se encuentran por debajo según Duarte, y otros, (2013).

- Evaluación de esporas: en lo que respecta a las concentraciones existió diferencia significativa aceptando la hipótesis alternativa y siendo el nivel más alto c_2 (93,08) (400 μ l) y el más bajo c_0 (88,59) (100 μ l), valores inferiores de inhibición y superior en concentración, según Velásquez, y otros (2014).

5.2. Recomendaciones

- Con respecto a las variedades de tomate riñón (T. Fortuna y T. chonto), se recomienda la utilización de aceites esenciales de Manzanilla y Hierbabuena en la variedad de tomate riñón (chonto), ya que éste presentó menor presencia de hongos, es decir se obtuvo mejores resultados en esta variedad.
- Con respecto a los tipos de aceites esenciales *Matricaria chamomilla* (Manzanilla) y *Mentha spicata* (Hierbabuena), con mayor actividad fúngica sobre los hongos, se recomienda el aceite esencial de Hierbabuena, por presentar mayor inhibición en hongos *Fusarium sp.* y *Alternaria sp.*
- En lo referente a las concentraciones de los aceites esenciales se recomienda las tres concentraciones (100 µl, 200 µl y 400 µl), utilizadas ya que ninguna de las tres presentaron crecimiento radial ni de esporas, junto con el aceite esencial de Hierbabuena.

CAPITULO VI

6. BIBLIOGRAFÍA

6.1. Literatura Citada

- Alves de Aguiar, R., Gomes da Cunha, M., & Murillo Lobo, J. (2014). Management of white mold in processing tomatoes by *Trichoderma* spp. and chemical fungicides applied by drip irrigation. *sciencedirect*, 1–5.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (29 de 09 de 2007). Biological effects of essential oils – A review. *sciencedirect*, 446–475.
- Bartz, J. A., Hyun-Gyun, Y., Mahovic, M. J., Warren, B. R., Sreedharan, A., & Schneider, K. R. (2015). Internalization of *Salmonella enterica* by tomato fruit. *sciencedirect*, 141–150.
- Benadof, D. (agosto de 2010). *Fusarium* especie.
- Blancard, D. (2011). *enfermedades del Tomate*. España: Mundi Prensa.
- Booth, C. (1971). The genus *Fusarium*. . *cabdirect*, 237.
- Casseres, E. (1980). *Producción de Hortalizas*. San José, Costa Rica: IICA.
- Castillo, J. M. (2007). *Micotoxinas en Alimentos*. España: Díaz de Santos.
- Damian, P. (1997). *Aromaterapia El olor y la psique*. México: Ediciones Étoile, S.A. de C.V.
- Dorais, M., Ehret, D. L., & Papadopoulos, A. P. (07 de 2008). Tomato (*Solanum lycopersicum*) health components: from the seed to the consumer. *springer*, 231-250.
- Duarte, Y., Pino, O., & Martínez, B. (12 de 2013). *scielo.sld.cu*.
- Duarte, Y., Pino, O., Infante, D., Del Carmen, M., Sánchez Yaima, Travieso, M., & Martínez, B. (04 de 2013). *scielo.sld.cu*.

- Falcones, P. L. (2001). Evaluación Agronómica de Diez Cultivares de Tomate bajo sistema hidropónico en la zona Virgen de Fátima. En F. Nuez, El cultivo del tomate (págs. 16-18). Barcelona Es.: Mudi-Prensa.
- Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V. (25 de 12 de 2001).
- Hernández, R., Fernández, C., & Baptista, L. (2010). Metodología de la investigación. McGrawHill.
- Isman, M. B. (30 de 10 de 2000). Plant essential oils for pest and disease management. sciencedirect, 603–608.
- Javier Vioque, A. C. (2000). Jornada Internacional sobre Proteínas Alimentarias. España: Imprenta Comercial. Motril.
- Jenkins, J. A. (10-12 de 1948). The origin of the cultivated tomato. springer, 379-392.
- Kalemba, D., & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. ingentaconnect, 813-829.
- Márquez, M. D. (2004). Plntas Aromáticas. Buenos Aires: Kier S.A.
- Nuez, F., & Díez, M. J. (11 de 04 de 2013). Solanum lycopersicum var. lycopersicum (Tomato). sciencedirect, 476-480.
- Ocaña, V. P. (2002). Estudio de la Afinidad de Especies de Caricaceae como Patrones de Babaco y su reacción a Fusarium oxysporum. Quito - Ecuador.
- Olaya Flórez, J. M. (2003). Aceites Esenciales. Guía de plantas y productos medicinales, 20.
- Patriarca, A., Vaamonde, G., & Pinto, V. F. (2014). Alternaria. sciencedirect, 54–60.
- Purbrick, P. a. (2007). CHAMOMILE DEMAND, CULTIVATION & USE IN AUSTRALIA. actahort, 65-70.

- Ríos R., Y. K., Otero J., A. C., Muñoz H., D. L., Echeverry R., M., Robledo R., S. M., & Yepes C., M. A. (2008). Actividad citotóxica y leishmanicida in vitro (Matricaria chamomilla). scielo, 203.
- Rivas, L. M. (octubre de 2014). scielo.
- Rodríguez Álvarez, M., Alcaez Meléndez, L., & Real Cosío, S. M. (2012). Procedimiento para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. México: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste.
- Roldán, J. M. (2011). Recolección, almacenamiento y transporte de flores y hortalizas. ANTEQUERA, Málaga: INNOVA Y CUALIFICACIÓN, S.L.
- Rotem, J. (1994). The Genus Alternaria: Biology, Epidemiology, and Pathogenicity. apsnet, 44.
- Salazar, L., Sanabria, N., Aponte, G., Alcano, M., Herrera, R., Colmenares, D., . . . Magaña, S. (2011). /www.scielo.org.ve.
- Sellar, W. (2009). Guía de Aceites Esenciales. España: EDADF, S.L.
- Shi, J., & Le Maguer, M. (2010). Lycopene in Tomatoes: Chemical and Physical Properties Affected by Food Processing. tandfonline, 1-42.
- Tapia, C., & Amaro, J. (02 de 2014). www.scielo.cl.
- Thrane, U. (2014). Fusarium. sciencedirect, 76–81.
- Vallejo Cabrera, F. A., & Estrada Salazar, E. I. (2004). Producción de hortalizas de clima cálido. Cali: Imágenes Gráficas S.A.
- Velásquez, M. A., Álvarez, R. M., Tamayo, P. J., & Carvalho, C. P. (06 de 2014). www.scielo.org.co.
- Waltterson, J. C. (1986). Diseases. springer, 443-484 .
- Woudenberg, J. H., Groenewald, J. Z., Binder, M., & Crous, P. W. (2013). Alternaria redefined. sciencedirect., 171–212.

CAPITULO VII

7. ANEXOS

7.1. ANEXO N°1: Actividad fúngica de los aceites esenciales de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) y *Mentha spicata* (hierbabuena)

7.1.1. Evaluación a partir de las 24 horas

TRATAMIENTOS	R ₁		R ₂	
	VERTICAL	HORIZONTAL	VERTICAL	HORIZONTAL
a ₀ b ₀ c ₀	0,6	0,7	0,8	0,8
a ₀ b ₀ c ₁	0	0	0	0
a ₀ b ₀ c ₂	0	0	0	0
a ₀ b ₁ c ₀	0	0	0	0
a ₀ b ₁ c ₁	0	0	0	0
a ₀ b ₁ c ₂	0	0	0	0
a ₁ b ₀ c ₀	0	0	0	0
a ₁ b ₀ c ₁	0	0	0	0
a ₁ b ₀ c ₂	0	0	0	0
a ₁ b ₁ c ₀	0	0	0	0
a ₁ b ₁ c ₁	0	0	0	0
a ₁ b ₁ c ₂	0	0	0	0

Elaborado por: Sabando M. (2015)

7.1.2. Evaluación a partir de las 48 horas

TRATAMIENTOS	R ₁		R ₂	
	VERTICAL	HORIZONTAL	VERTICAL	HORIZONTAL
a ₀ b ₀ c ₀	1	0,8	0,9	0,8
a ₀ b ₀ c ₁	0,8	0,8	0	0
a ₀ b ₀ c ₂	0	0	0	0
a ₀ b ₁ c ₀	0	0	0	0
a ₀ b ₁ c ₁	0	0	0	0
a ₀ b ₁ c ₂	0	0	0	0
a ₁ b ₀ c ₀	0	0	0	0
a ₁ b ₀ c ₁	0	0	0	0
a ₁ b ₀ c ₂	0	0	0	0
a ₁ b ₁ c ₀	0	0	0	0
a ₁ b ₁ c ₁	0	0	0	0
a ₁ b ₁ c ₂	0	0	0	0

Elaborado por: Sabando M. (2015)

7.1.3. Evaluación a partir de las 72 horas

TRATAMIENTOS	R ₁		R ₂	
	VERTICAL	HORIZONTAL	VERTICAL	HORIZONTAL
a ₀ b ₀ c ₀	1	1	1,1	1,2
a ₀ b ₀ c ₁	1	1	0,9	0,9
a ₀ b ₀ c ₂	1,9	1,4	1,2	1,2
a ₀ b ₁ c ₀	0	0	0	0
a ₀ b ₁ c ₁	0	0	0	0
a ₀ b ₁ c ₂	0	0	0	0
a ₁ b ₀ c ₀	0	0	1	1
a ₁ b ₀ c ₁	1,1	0,9	0	0
a ₁ b ₀ c ₂	0	0	0	0
a ₁ b ₁ c ₀	0	0	0	0
a ₁ b ₁ c ₁	0	0	0	0
a ₁ b ₁ c ₂	0	0	0	0

Elaborado por: Sabando M. (2015)

7.1.4. Evaluación a partir de las 96 horas

TRATAMIENTOS	R ₁		R ₂	
	VERTICAL	HORIZONTAL	VERTICAL	HORIZONTAL
a ₀ b ₀ c ₀	1,1	1,1	1,1	1,2
a ₀ b ₀ c ₁	1,2	1,1	0,9	0,9
a ₀ b ₀ c ₂	2	1,5	1,4	1,2
a ₀ b ₁ c ₀	0	0	0	0
a ₀ b ₁ c ₁	0	0	0	0
a ₀ b ₁ c ₂	0	0	0	0
a ₁ b ₀ c ₀	0	0	0	0
a ₁ b ₀ c ₁	0	0	1	1
a ₁ b ₀ c ₂	1,1	0,9	0	0
a ₁ b ₁ c ₀	0	0	0	0
a ₁ b ₁ c ₁	0	0	0	0
a ₁ b ₁ c ₂	0	0	0	0

Elaborado por: Sabando M. (2015)

7.1.5. Evaluación a partir de las 120 horas

TRATAMIENTOS	R ₁		R ₂	
	VERTICAL	HORIZONTAL	VERTICAL	HORIZONTAL
a ₀ b ₀ c ₀	1,1	1,2	1,6	1,5
a ₀ b ₀ c ₁	1,3	1,3	1,3	1,3
a ₀ b ₀ c ₂	2,1	1,6	1,6	1,5
a ₀ b ₁ c ₀	0	0	0	0
a ₀ b ₁ c ₁	0	0	0	0
a ₀ b ₁ c ₂	0	0	0	0
a ₁ b ₀ c ₀	1	1	0,9	1
a ₁ b ₀ c ₁	0	0	1	1
a ₁ b ₀ c ₂	1,1	0,9	0	0
a ₁ b ₁ c ₀	0	0	0	0
a ₁ b ₁ c ₁	0	0	0	0
a ₁ b ₁ c ₂	0	0	0	0

Elaborado por: Sabando M. (2015)

7.1.6. Evaluación a partir de las 144 horas

TRATAMIENTOS	R ₁		R ₂	
	VERTICAL	HORIZONTAL	VERTICAL	HORIZONTAL
a ₀ b ₀ c ₀	1,1	1,2	1,7	1,8
a ₀ b ₀ c ₁	1,5	1,4	1,4	1,4
a ₀ b ₀ c ₂	2,4	1,8	1,6	1,9
a ₀ b ₁ c ₀	0	0	0	0
a ₀ b ₁ c ₁	0	0	0	0
a ₀ b ₁ c ₂	0	0	0	0
a ₁ b ₀ c ₀	1	1	0,9	1
a ₁ b ₀ c ₁	0	0	1	1
a ₁ b ₀ c ₂	1,1	0,9	0	0
a ₁ b ₁ c ₀	0	0	0	0
a ₁ b ₁ c ₁	0	0	0	0
a ₁ b ₁ c ₂	0	0	0	0

Elaborado por: Sabando M. (2015)

7.1.7. Evaluación a partir de las 168 horas

TRATAMIENTOS	R ₁		R ₂	
	VERTICAL	HORIZONTAL	VERTICAL	HORIZONTAL
a ₀ b ₀ C ₀	1,9	1,5	2,1	2
a ₀ b ₀ C ₁	1,6	1,7	1,7	1,7
a ₀ b ₀ C ₂	2,4	1,8	1,9	2
a ₀ b ₁ C ₀	0	0	0	0
a ₀ b ₁ C ₁	0	0	0	0
a ₀ b ₁ C ₂	0	0	0	0
a ₁ b ₀ C ₀	1,1	1,2	1,1	1,1
a ₁ b ₀ C ₁	0	0	1	1
a ₁ b ₀ C ₂	1,1	0,9	0	0
a ₁ b ₁ C ₀	0	0	0	0
a ₁ b ₁ C ₁	0	0	0	0
a ₁ b ₁ C ₂	0	0	0	0

Elaborado por: Sabando M. (2015)

7.2. ANEXO N°2: Evaluación de los testigos *Fusarium sp.* y *Alternaria sp.*, durante siete días

	R ₁		R ₂	
	VERTICAL	HORIZONTAL	VERTICAL	HORIZONTAL
<i>Fusarium sp.</i>				
24 horas	1,8	1,2	0,9	0,9
48 horas	2	2	1,6	1,7
72 horas	2,6	2,8	2,4	2,5
96 horas	3,9	4,3	3,2	3,9
120 horas	4	4	4,2	4,4
144 horas	4,6	4,7	5,2	5,5
168 horas	5,2	8,4	6,3	6,5
<i>Alternaria sp.</i>				
24 horas	1,2	1,3	1,2	1,5
48 horas	2,2	2	1,7	2
72 horas	3,1	3	2,5	2,9
96 horas	3,8	4,1	3,6	3,2
120 horas	5	4,8	3,8	3,6
144 horas	6,1	5,8	4,2	5,3
168 horas	7,1	7,1	4,7	5,8

7.3. ANEXO N°3: Evaluación total de los porcentajes de inhibición de los hongos *fusarium sp.*, y *alternaria sp.*, en crecimiento radial

TRATAMIENTOS	R ₁	R ₂
a ₀ b ₀ c ₀	75	67,96
a ₀ b ₀ c ₁	75,76	73,43
a ₀ b ₀ c ₂	69,11	69,53
a ₀ b ₁ c ₀	100	100
a ₀ b ₁ c ₁	100	100
a ₀ b ₁ c ₂	100	100
a ₁ b ₀ c ₀	83,8	79,04
a ₁ b ₀ c ₁	100	80,95
a ₁ b ₀ c ₂	85,91	100
a ₁ b ₁ c ₀	100	100
a ₁ b ₁ c ₁	100	100
a ₁ b ₁ c ₂	100	100

7.4. ANEXO N°4: Evaluación total de los tratamientos en el porcentaje de inhibición en la evaluación esporas

TRATAMIENTOS	R ₁	R ₂
a ₀ b ₀ c ₀	62,04	62,05
a ₀ b ₀ c ₁	69,53	69,53
a ₀ b ₀ c ₂	73,84	73,85
a ₀ b ₁ c ₀	99,84	99,84
a ₀ b ₁ c ₁	99,87	99,87
a ₀ b ₁ c ₂	100	99
a ₁ b ₀ c ₀	93	93
a ₁ b ₀ c ₁	96	95
a ₁ b ₀ c ₂	99	99
a ₁ b ₁ c ₀	100	99
a ₁ b ₁ c ₁	100	100
a ₁ b ₁ c ₂	100	100

7.5. ANEXO N°5: Fotos de la fase experimental

AISLAMIENTO DE LOS HOGOS



Tomate Riñón (fortuna) Tomate Riñón (chonto)



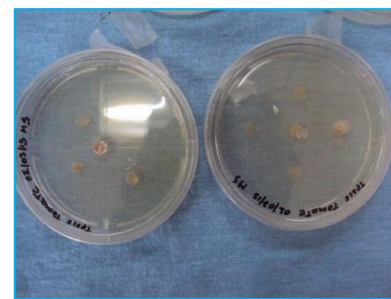
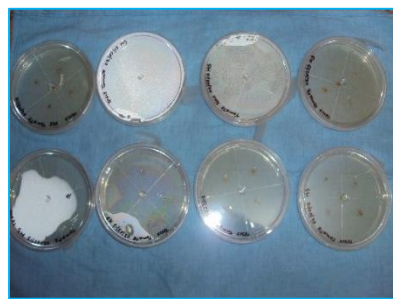
Extracción del epicarpio



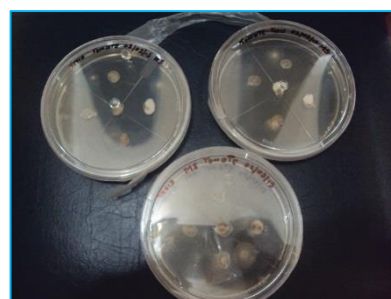
Corte del tomate



Siembra de la muestra del tomate



Muestras del tomate en cajas Petri desechable con PDA



Desarrollo de hongos en las muestras de tomate

Elaborado por: Sabando M. (2015)

REPIQUE E IDENTIFICACIÓN DE LOS HONGOS



Preparación de tubos de ensayo con PDA para repicar los hongos



PDA estéril pico de flauta



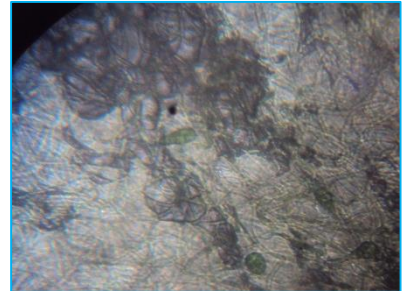
Repique del hongo en tubos de ensayo en PDA



Identificación de los hongos



Hongo. *Fusarium* sp.



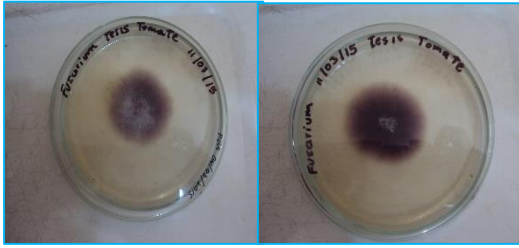
Hongo *Alternaria* sp.



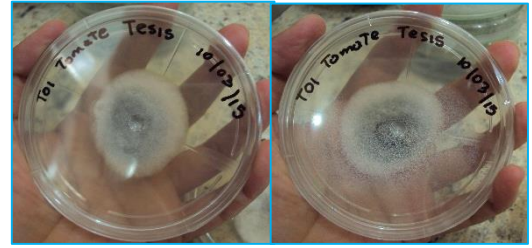
Segundo repique de hongos *Alternaria* sp., y *Fusarium* sp., para obtener la muestra principal

Elaborado por: Sabando M. (2015)

CONCENTRACIONES DE ACEITES ESENCIALES APLICADOS A LOS HONGOS



Fusarium sp., muestra principal



Alternaria sp., muestra principal



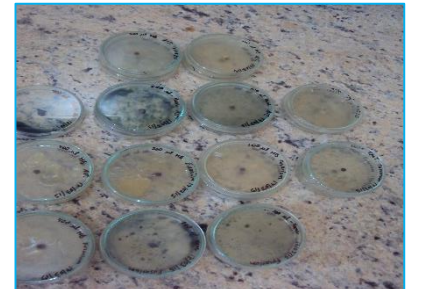
Aceite Esencial de Manzanilla



Aceite Esencial de Hierbabuena



Tween 20



Aislamiento de los hongos con las concentraciones de 100 μ l, 200 μ l y 400 μ l, de aceites esenciales de Manzanilla y Hierbabuena



Tratamientos



Incubadora



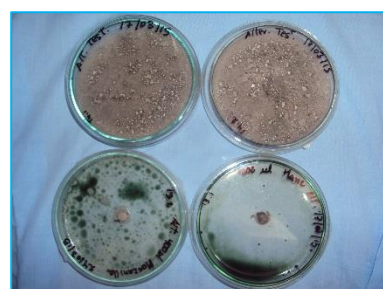
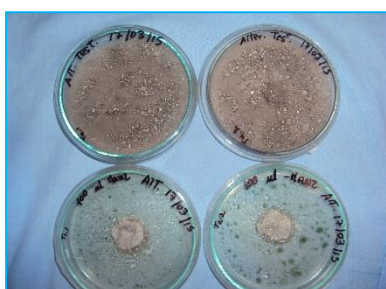
Tratamientos en Incubación

Elaborado por: Sabando M. (2015)

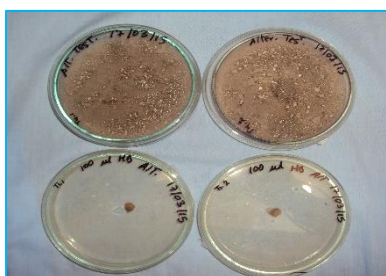
CRECIMIENTO RADIAL DE LOS HONGOS *FUSARIUM SP.*, Y *ALTERNARIA SP.*



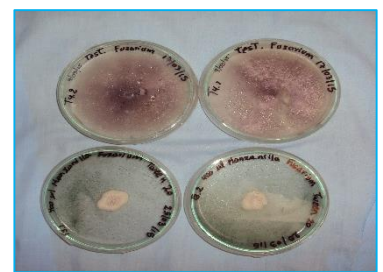
Evaluación del crecimiento radial de *Fusarium sp.*, y *Alternaria sp.*



Testigos de *Alternaria sp.*, con los tratamiento de 100 µl, 200 µl y 400 µl de aceite esencial de Manzanilla



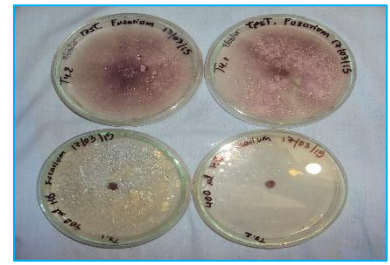
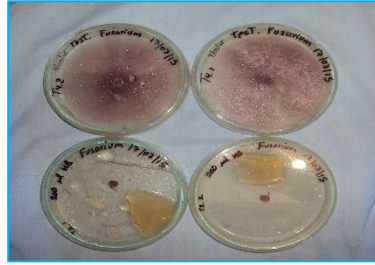
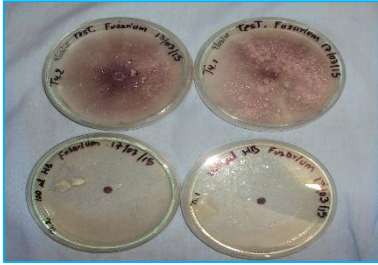
Testigos de *Alternaria sp.*, con los tratamiento de 100 µl, 200 µl y 400 µl de aceite esencial de Hierbabuena



Testigos de *Fusarium sp.*, con los tratamiento de 100 µl, 200 µl y 400 µl de aceite esencial de Manzanilla

Elaborado por: Sabando M. (2015)

EVALUACIÓN DE ESPORAS



Testigos de *Fusarium* sp., con los tratamiento de 100 µl, 200 µl y 400 µl de aceite esencial de Hierbabuena



Preparación para la evaluación de esporas de los hongos utilizando agua estéril y tween 20



Agitación de la muestra

Ubicación del líquido en el contador de Neubauer

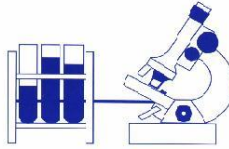


Contador de Neubauer

Conteo de esporas

Elaborado por: Sabando M. (2015)

7.4. ANEXO 6: Técnica de laboratorio para aislar hongos

	LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA	
	TECNICA PARA AISLAR HONGOS	

- **OBJETIVO**

- Aislar y sembrar los hongos en placas Petri utilizando correctamente sus respectivos agares y caldos de cultivo, en distintos métodos de aislamientos.

- **INSTRUMENTAL**

- Cámara de flujo laminar
- Bisturí
- Cajas petri,
- Hipoclorito de sodio al 3%
- Toallas de papel
- Mechero
- Marcador
- Incubadora
- Medio de cultivo PDA
- Pinzas
- Muestra vegetal con síntomas

Nota: Todos los procedimientos se deben ejecutar dentro de la cámara de flujo laminar; además, deben cumplirse todas las condiciones de asepsia y esterilidad que se exigen en un laboratorio. En otras palabras, se aplican siempre las buenas prácticas microbiológicas (BPM).

- **PREPARACIÓN DE LA MUESTRA**

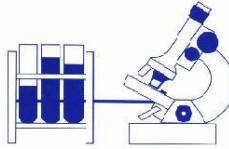
Las siglas PDA corresponden a los componentes del medio: papa, dextrosa y agar. Este medio se usa para aislar éste y otros patógenos.

Esterilizar la cámara de flujo laminar previo a la ubicación de los materiales, para evitar algún tipo de contaminación y las muestras deben estar ubicadas en tubos de ensayos.

- **PROCEDIMIENTO**

- **Paso 1:** Cortar varios trozos del tejido enfermo utilizando un bisturí estéril.
- **Paso 2:** Desinfectar los trozos de muestra en una caja petri de 60 mm que contenga una solución de hipoclorito de sodio al 3%, durante 3 minutos. Enjuagar luego los trozos desinfectados con agua destilada estéril en otra caja petri, vertiendo el agua sobre la muestra con una pipeta estéril.
- **Paso 3:** Colocar los trozos lavados sobre toallas de papel estériles durante 10 minutos para que se sequen.
- **Paso 4:** Cuando los trozos estén secos, tomarlos con una pinza estéril y 'sembrarlos' en una caja petri que contenga el medio de cultivo PDA. Hacer lo mismo con las demás cajas (para multiplicar las muestras). Incubar las cajas a 24 °C durante 7 días, tiempo en que el hongo producirá masas de conidias y micelio.

7.5. ANEXO 7: Técnica de laboratorio para crecimiento radial

	LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA	
	TECNICA PARA CREDIMIENTO RADIAL	

- **OBJETIVO**

- Determinar el crecimiento radial de los hongos durante siete días

- **INSTRUMENTAL**

- Contador de colonia
- Marcador indeleble
- Incubadora

Nota: Todos los procedimientos se deben ejecutar dentro de la cámara de flujo laminar; además, deben cumplirse todas las condiciones de asepsia y esterilidad que se exigen en un laboratorio. En otras palabras, se aplican siempre las buenas prácticas microbiológicas (BPM).

- **PROCEDIMIENTO**

- **Paso 1:** Desinfectar las manos y el área de trabajo.
- **Paso 2:** Colocar el contador de colonia en un lugar amplio y estéril.
- **Paso 3:** Colocar las cajas en el contador de colonia y verificar su crecimiento señalando con un marcador.
- **Paso 4:** Se aplica la fórmula correspondiente para verificar el porcentaje de inhibición.

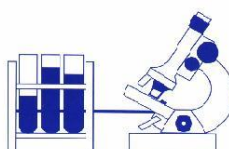
$$T - Tr / T * 100$$

Donde:

T = Testigo

Tr = Tratamiento

7.6. ANEXO 8: Técnica de laboratorio para crecimiento de esporas

	LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA	
	TECNICA PARA EVALUACIÓN DE ESPORAS	

- **OBJETIVO**

- Determinar el número de esporas en los hongos después de los siete días.

- **INSTRUMENTAL**

- Contador de Neubauer
- Microscopio
- Micropipetas
- Puntas estériles
- Pipetas pasteur
- Vaso de precipitación
- Tween 80
- Gasa estéril
- Microtubos eppendorf
- Agitador Vórtex
- Varilla de agitación
- Mechero

Nota: Todos los procedimientos se deben ejecutar dentro de la cámara de flujo laminar; además, deben cumplirse todas las condiciones de asepsia y esterilidad que se exigen en un laboratorio. En otras palabras, se aplican siempre las buenas prácticas microbiológicas (BPM).

- **PROCEDIMIENTO**

- **Paso 1:** Dependiendo del tipo de muestra medir, se ha de habrá de preparar una muestra con una concentración apta para su recuento.

- **Paso 2:** Retirar con cuidado la tapa de la caja petri en donde se encuentran los hongos.
- **Paso 3:** En una probeta de 10 ml colocar agua estéril, para adicionar sobre el hongo.
- **Paso 4:** Con la varilla esparcir el micelio del hongo.
- **Paso 5:** Con la micropipeta absorber el líquido de la caja petri para colocar en el microtubo eppendorf previamente colocado una gasa estéril para evitar filtrar micelio.
- **Paso 6:** Sellar y colocar el microtubo eppendorf en el agitador Vórtex para tener una solución homogénea.
- **Paso 7:** Finalmente la muestra se coloca en el contador de Neubauer para observar en el microscopio la cantidad de esporas obtenidas del hongo.
- **Paso 8:** Para tener el porcentaje de esporas si se realizó el conteo en cuadros grandes se multiplica por 2000 y en cuadros pequeños se multiplica por 50000, aplicando la fórmula del crecimiento radial.

$$T - Tr / T * 100$$

Donde:

T = Testigo

Tr = Tratamiento

7.7. ANEXO 9: Análisis de varianza para crecimiento radial

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Efectos Principales					
A:Factor A	407,633	1	407,633	14,70	0,0028
B:Factor B	2390,21	1	2390,21	86,17	0,0000
C:Factor C	40,6353	2	20,3176	0,73	0,5027
D:REPLICAS	14,5237	1	14,5237	0,52	0,4844
INTERACCIONES					
AB	407,633	1	407,633	14,70	0,0028
AC	47,1628	2	23,5814	0,85	0,4536
BC	40,6353	2	20,3176	0,73	0,5027
ABC	47,1628	2	23,5814	0,85	0,4536
RESIDUOS	305,104	11	27,7367		
TOTAL	3700,7	23			

PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA CRECIMIENTO RADIAL POR FACTOR A

FACTOR A	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	12	85,8992	1,52033	X
2	12	94,1417	1,52033	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2	*	-8,2425	4,73228

PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA CRECIMIENTO RADIAL POR FACTOR B

FACTOR B	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	12	80,0408	1,52033	X
2	12	100,0	1,52033	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2	*	-19,9592	4,73228

PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA CRECIMIENTO RADIAL POR FACTOR C

FACTOR C	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	8	88,225	1,86201	X
3	8	90,5687	1,86201	X
2	8	91,2675	1,86201	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2		-3,0425	7,12644
1 – 3		-2,34375	7,12644
2 – 3		0,69875	7,12644

PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA CRECIMIENTO RADIAL POR REPLICAS

REPLICAS	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	12	89,2425	1,52033	X
1	12	90,7983	1,52033	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2		1,55583	4,73228

7.8. Anexo 10: Análisis de varianza para evaluación de esporas

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Efectos Principales					
A:Factor A	1130.8	1	1130.8	11007.00	0.0000
B:Factor B	1865.25	1	1865.25	18156.00	0.0000
C:Factor C	81.4258	2	40.7129	396.29	0.0000
D:REPETICIONES	0.370017	1	0.370017	3.60	0.0843
INTERACCIONES					
AB	1114.93	1	1114.93	10852.54	0.0000
AC	7.53081	2	3.7654	36.65	0.0000
BC	77.9268	2	38.9634	379.26	0.0000
ABC	12.5418	2	6.2709	61.04	0.0000
RESIDUOS	1.13008	11	0.102735		
TOTAL	4291.92	23			

PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA LA EVALUACIÓN DE ESPORAS POR FACTOR A

FACTOR A	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	12	84.105	0.092527	X
2	12	97.8333	0.092527	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	-13.7283	0.288006

PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA LA EVALUACIÓN DE ESPORAS POR FACTOR B

FACTOR B	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	12	82.1533	0.092527	X
2	12	99.785	0.092527	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	-17.6317	0.288006

PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA LA EVALUACIÓN DE ESPORAS POR FACTOR C

<i>FACTOR C</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	8	88.5963	0.113322	X
2	8	91.225	0.113322	X
3	8	93.0862	0.113322	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
1 - 2	*	-2.62875	0.433715
1 - 3	*	-4.49	0.433715
2 - 3	*	-1.86125	0.433715

PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA LA EVALUACIÓN DE ESPORAS POR REPLICAS

<i>REPETICIONES</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
2	12	90.845	0.092527	X
1	12	91.0933	0.092527	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
1 - 2		0.248333	0.288006

7.9. ANEXO 11: Certificados de Laboratorio



Quevedo, 09 de abril del 2015

CERTIFICO

Por medio de la presente certifico que la **Srta. Sabando Varela Mary Cruz** con Cl. 131114437-0 realizo el proceso de aislamiento, repique, siembra e identificación de hongos de tomate aplicando aceites esenciales de manzanilla y hierbabuena evaluando su crecimiento radial y su crecimiento de esporas con la TESIS TITULADA: **Aplicación de los aceites esenciales de Mentha Spicata (Hierbabuena) y matricaria Chamomilla (Manzanilla) en la inhibición de dos variedades de tomate**, mencionado proceso lo realizo en nuestra área de Biotecnología **LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA**.

Autorizo a la Srta. Sabando Varela Mary Cruz puede hacer uso de este documento para sus respectivos tramites.

ATENTAMENTE

Dr. José Enrique Nieto Rodríguez
COORDINADOR GENERAL DE INVESTIGACION, DESARROLLO E INNOVACION



UNIVERSIDAD TECNICA ESTATAL DE QUEVEDO



LABORATORIOS BASICOS

MICROBIOLOGIA – BIOLOGIA – QUIMICA – LABORATORIO CLINICO BASICO

Dirección: Km. 1.5 vía Santo Domingo de los Tsáchilas
Teléfonos: (593-05) 2750320 – 2752430 – 2753302 Fax: (593-05) 2753300 – 2753303
Página web: www.uteq.edu.ec e-mail: info@uteq.edu.ec
CASILLAS: Guayaquil: 10672 Quevedo: 73
Quevedo – Los Ríos – Ecuador



**LCDO. JUAN EMILIO HERRERA QUIMI, COORDINADOR DE LOS LABORATORIOS BASICOS
ENCARGADO DE LA UNIVERSIDAD TECNICA ESTATAL DE QUEVEDO.**

A petición de la interesada, me permito extender el presente:

CERTIFICADO DE ACTIVIDADES EN LABORATORIO

A favor de la Srta. **SABANDO VARELA MARY CRUZ**, portadora de la cedula de ciudadanía No.131114437-0, quien realizó actividades prácticas investigativas en el Laboratorio de Microbiología, durante el mes de marzo de 2015. Durante este tiempo REALIZÒ ANÁLISIS MICROBIOLÒGICO DE HONGOS EN TOMATE, aplicando aceites esenciales, como parte de su tesis denominada: "APLICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES DE MENTHA SPICATA (HIERBA BUENA) Y MATRICARIA CHAMOMILLA (MANZANILLA) EN LA INHIBICIÓN DE DOS VARIEDADES DE TOMATE"

La Srta. Sabando Varela Mary Cruz, durante su estancia en el laboratorio demostró ser una persona respetuosa, responsable y honrada, capaz de cumplir con las normas del laboratorio y funciones encomendadas.

Me permito hacer notorio y ratificar lo manifestado en el presente **CERTIFICADO DE ACTIVIDADES EN LABORATORIO**, para que la Srta. Sabando Varela Mary Cruz pueda presentarlo o adjuntarlo en los trámites que convenga a sus intereses ante entidades públicas o particulares que así lo exigen y hasta donde la ley se lo permita.

Atentamente,

Lcdo. Juan Herrera Quimi

COORDINADOR DE LABORATORIOS BASICOS (E)

Quevedo, 9 de abril de 2015

Jefe de los Laboratorios Básicos Ing. Samir Zambrano Montes - Móvil 082718373 - E. Mail s.zambranom@yahoo.com
Técnico de Laboratorios Básico y Clínico, Lic. Juan Herrera Quimi - Móvil 093450014 - E. Mail Juan_herrera59@hotmail.com
Asistente de Laboratorios Básicos Egdo. José Vargas Sánchez - Móvil 080090263 - E. Mail jovasa18@yahoo.com