

Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*eucalyptus globulus labill.*) Y cáscara de naranja (*citrus sinensis linn. osbeck.*) sobre *fusarium spp.* En Puno



DOI: <http://dx.doi.org/10.23857/dc.v7i1.1704>

Ciencias de la Naturales
Artículo de investigación

*Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*eucalyptus globulus labill.*) y cáscara de naranja (*citrus sinensis linn. osbeck.*) sobre *fusarium spp.* En Puno*

*In vitro inhibitory effect of essential oil of eucalyptus (*eucalyptus globulus labill.*) and orange peel (*citrus sinensis linn. Osbeck.*) On *fusarium spp.* In Puno*

*Efeito inibitório in vitro do óleo essencial de eucalipto (*eucalyptus globulus labill.*) E casca de laranja (*citrus sinensis linn. Osbeck.*) Sobre *fusarium spp.* Em Puno*

Victor Lanza Peralta-Peralta ^I
agente1700@hotmail.edu.pe
<https://orcid.org/0000-0001-5205-5255>

Silverio Apaza-Apaza ^{II}
sapaza44@hotmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-1279-9342>

Elisban Uriel Huanca-Quiroz ^{III}
elisbanhuanca@unap.edu.pe
<https://orcid.org/0000-0003-0814-0035>

René Aguilar-Ancota ^{IV}
raancota@hotmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-3965-6096>

Correspondencia: agente1700@hotmail.edu.pe

***Recibido:** 20 de diciembre de 2020 ***Aceptado:** 12 de enero de 2021 * **Publicado:** 08 de febrero del 2021

- I. Ingeniero Agrónomo, Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano, Perú.
- II. Docente Principal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano, Doctoris Scientiae en Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente, Perú.
- III. Docente Principal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano, Magister Scientiae en Ingeniería Agrícola, Perú.
- IV. Docente Asociado de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Piura, Magister Scientiae en Fitopatología, Perú.

Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*eucalyptus globulus labill.*) Y cáscara de naranja (*citrus sinensis linn. osbeck.*) sobre *fusarium spp.* En Puno

Resumen

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Fitopatología de la Escuela Profesional de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional del Altiplano, ya que el fitopatógeno del Genero *Fusarium spp.*, causa serias pérdidas en tubérculos de papa (*Solanum tuberosum L.*) almacenados. El objetivo fue evaluar el efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus Labill.*) y cáscara de naranja (*Citrus sinensis (Linn.) Osbeck.*) sobre *Fusarium spp.* Se consideró dos fases, la fase de laboratorio donde se aisló, purifico, multiplico e identifico al fitopatógeno y la fase experimental donde se obtuvieron los aceites vegetales, preparación del medio de cultivo (PDA+aceite esencial) y medición del crecimiento de la colonia. Para evaluar el efecto de los aceites esenciales de hojas de eucalipto y cáscara de naranja sobre *Fusarium spp.* a tres concentraciones cada uno y la combinación de ambos aceites esenciales se utilizó el Diseño Completamente al Azar bajo un arreglo factorial de 3*3 (3 concentraciones de aceites esenciales de hojas de eucalipto E1, E2, y E3), (3 concentraciones de aceites esenciales de cáscara de naranja C1, C2 y C3), con nueve tratamientos y cuatro repeticiones. Donde los tratamientos constituyeron las combinaciones de los factores en estudio. Concluyéndose que a los siete días de evaluación el tratamiento E3= (Eucalipto al 50%) tuvo menor crecimiento de la colonia de *Fusarium spp.*, con 43.7 mm. promedio del área radial de la placa Petri y el tratamiento C1= (Cáscara de naranja al 0%) tuvo un crecimiento menor de la colonia de *Fusarium spp.*, con 58.4 mm en promedio del área radial de la placa Petri, respecto a las combinaciones de eucalipto más cáscara de naranja a los siete días de evaluación el tratamiento E3C1= (Eucalipto al 50% + Cáscara de naranja al 0%) posee menor crecimiento de la colonia de *Fusarium spp.*, con un promedio del 28.8 mm., del área radial de la placa Petri, en consecuencia, los tratamientos E3 y E3C1 tuvieron el mejor control sobre el hongo fitopatogéno *Fusarium spp.*, a los siete días de evaluación.

Palabras clave: Aceite esencial; hongo fitopatógeno; inhibición e in vitro.

Abstract

The work was carried out in the Phytopathology Laboratory of the Professional School of Agronomic Engineering of the National University of the Altiplano, since the phytopathogen of the Genus *Fusarium spp.*, Causes serious losses in stored potato tubers (*Solanum tuberosum L.*). The objective was to evaluate the inhibitory effect in vitro of the essential oil of eucalyptus

Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*eucalyptus globulus labill.*) Y cáscara de naranja (*citrus sinensis linn. osbeck.*) sobre *fusarium spp.* En Puno

(*Eucalyptus globulus* Labill.) And orange peel (*Citrus sinensis* (Linn.) Osbeck.) On *Fusarium spp.* Two phases were considered, the laboratory phase where the phytopathogen was isolated, purified, multiplied and identified and the experimental phase where the vegetable oils were obtained, preparation of the culture medium (PDA + essential oil) and measurement of the growth of the colony. To evaluate the effect of the essential oils of eucalyptus leaves and orange peel on *Fusarium spp.* at three concentrations each and the combination of both essential oils, the Completely Random Design was used under a factorial arrangement of $3 * 3$ (3 concentrations of Eucalyptus leaves essential oils E1, E2, and E3), (3 concentrations of essential oils of orange peel C1, C2 and C3), with nine treatments and four repetitions. Where the treatments constituted the combinations of the factors under study. Concluding that at seven days of evaluation the treatment E3 = (*Eucalyptus* 50%) had lower growth of the *Fusarium spp.* Colony, with 43.7 mm. average radial area of the Petri dish and treatment C1 = (0% orange peel) had a lower growth of the *Fusarium spp.* colony, with 58.4 mm on average of the radial area of the Petri dish, with respect to the combinations of eucalyptus plus orange peel at seven days of evaluation treatment E3C1 = (50% *Eucalyptus* + 0% orange peel) has lower growth of the *Fusarium spp.* colony, with an average of 28.8 mm., of the area radially from the Petri dish, consequently, treatments E3 and E3C1 had the best control over the phytopathogenic fungus *Fusarium spp.*, at seven days of evaluation.

Keywords: Essential oil; phytopathogenic fungus; inhibition and in vitro.

Resumo

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da Escola Profissional de Engenharia Agrônômica da Universidade Nacional do Altiplano, visto que o fitopatógeno do Gênero *Fusarium spp.*, Provoca sérias perdas em tubérculos de batata armazenados (*Solanum tuberosum L.*). O objetivo foi avaliar o efeito inibitório in vitro do óleo essencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus Labill.*) E casca de laranja (*Citrus sinensis* (Linn.) Osbeck.) Sobre *Fusarium spp.* Foram consideradas duas fases, a fase laboratorial onde o fitopatógeno foi isolado, purificado, multiplicado e identificado e a fase experimental onde foram obtidos os óleos vegetais, preparo do meio de cultura (PDA + óleo essencial) e medição do crescimento da colônia. Para avaliar o efeito dos óleos essenciais de folhas de eucalipto e casca de laranja sobre *Fusarium spp.* em três concentrações cada e a combinação de ambos os óleos essenciais, o Delineamento Completamente

Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*eucalyptus globulus labill.*) Y cáscara de naranja (*citrus sinensis linn. osbeck.*) sobre *fusarium spp.* En Puno

Aleatório foi utilizado sob um arranjo fatorial de $3 * 3$ (3 concentrações de óleos essenciais de folhas de eucalipto E1, E2 e E3), (3 concentrações de óleos essenciais de casca de laranja C1, C2 e C3), com nove tratamentos e quatro repetições. Onde os tratamentos constituíram as combinações dos fatores em estudo. Concluindo que aos sete dias de avaliação o tratamento E3 = (*Eucalyptus* 50%) apresentou menor crescimento da Colônia de *Fusarium spp.*, Com 43,7 mm. média da área radial da placa de Petri e o tratamento C1 = (0% casca de laranja) tiveram menor crescimento da colônia de *Fusarium spp.*, com 58,4 mm em média da área radial da placa de Petri, com em relação às combinações de eucalipto mais casca de laranja aos sete dias de avaliação, o tratamento E3C1 = (50% *Eucalyptus* + 0% casca de laranja) apresenta menor crescimento da colônia de *Fusarium spp.*, com média de 28,8 mm., da área radialmente a partir de na placa de Petri, conseqüentemente, os tratamentos E3 e E3C1 tiveram o melhor controle sobre o fungo fitopatogênico *Fusarium spp.*, aos sete dias de avaliação.

Palavras-chave: Óleo essencial; fungo fitopatogênico; inibição e in vitro.

Introducción

Se ha comprobado que los plaguicidas químicos, y en particular los fungicidas, pueden tener impactos negativos en la biodiversidad de los agroecosistemas, así como en la salud pública.

Por esta razón los científicos trabajan en el desarrollo de alternativas de control ecológicas (Zavaleta, 2000). Una de las más recientes es el uso de productos derivados de las plantas (Dixon, 2001).

El descubrimiento de nuevos anti fúngicos se basa en la exploración de diferentes fuentes de compuestos biactivos, entre las que se encuentran las especies de plantas, conocidas hasta el momento entre 250.000 y 500.000 (Vepoorte, 1998; Cowann, 1999). Las plantas sintetizan metabolitos secundarios como las fitoanticipinas y las fitoalexinas, que utilizan para defenderse de la infección por agentes fitopatógenos, entre ellos los hongos (Farnsworth et al., 1985; Taylor, 1998; Osbourn, 1999). Otras moléculas producidas por las plantas son las fitodefensinas, de naturaleza peptídica y ricas en cisteína, con capacidad de inhibir el crecimiento de los hongos al producir en ellos cambios morfológicos y daño en algunas estructuras celulares (De Lucca, 1999; Selitrennikoff, 2001). Por esta razón, dichas moléculas pueden ser candidatas para estudios in vitro

Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*eucalyptus globulus labill.*) Y cáscara de naranja (*citrus sinensis linn. osbeck.*) sobre *fusarium* spp. En Puno

contra agentes micóticos implicados en infecciones humanas y también sobre hongos fitopatógenos que atacan a las plantas (Taylor, 1998; Mesa et al., 2004; Agrios, 2008).

Una amplia variedad de hongos filamentosos de los Géneros: *Fusarium*, *Aspergillus*, *Phyphthora* y *Botrytis* conocidos como fitopatógenos son de importancia comercial debido a los daños que estos causan en diferentes cultivos (Ramezani et al., 2002; Alitonou et al., 2004; Batish et al., 2008). Estos se manifiestan en su real dimensión cuando el manejo agronómico después de la cosecha es incorrecto, así como el mal almacenamiento de las semillas y otros productos no es lo ideal, constituyéndose como factor decisivo para la presencia de estos hongos filamentosos patógenos, mermando en porcentajes considerables la producción.

Barriga (1997) en su trabajo de investigación denominado “Enfermedades fungosas en tubérculos–semillas de papa almacenadas”, realizado en los almacenes de papa del Centro Experimental Tahuaco INIAA-Puno, llegó a identificar las enfermedades fungosas presentes en estos almacenes y los respectivos porcentajes de incidencia tal como se puede apreciar a continuación:

Tabla 1: Enfermedades fungosas presentes en los almacenes de Tahuaco-INIAA-Puno.

Enfermedad fungosa	Agente causal	Porcentaje de incidencia
Pudrición seca	<i>Fusarium</i> spp.	4.20
Rhizoctoniasis	<i>Rhizoctonia solani</i>	2.48
Gangrena	<i>Phoma</i> sp.	1.28
Punteado negro	<i>Colletotrichum</i> sp.	0.80
Kasahui	<i>Ulocladium</i> sp.	0.32

Fuente: Barriga, 1997.

Muchas especies de *Fusarium* ocasionan marchitamientos en varias plantas. Los síntomas de la enfermedad que provocan se manifiestan en epinastia, obstrucción y empardecimiento de los vasos xilémicos, necrosis, marchitamiento y finalmente, en la muerte de la planta (Agrios, 2008). Se ha identificado como fitoparásito de más de 100 especies de plantas entre gimnospermas y angiospermas a *Fusarium oxysporum* (Garces et al., 2001).

De las plantas del género *Eucalyptus* se obtienen varios aceites esenciales, extractos e infusiones con actividad antimicótica, compuesto principalmente por el componente activo 1,8-cineol que se encuentra en un rango de concentración entre 54% y 95% (Mellado et al., 1998).

Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill.) Y cáscara de naranja (*Citrus sinensis* Linn. Osbeck.) sobre *Fusarium* spp. En Puno

Muchas especies de este género, entre las que se incluyen *Eucalyptus camandulensis*, *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus tereticornis* y *Eucalyptus robusta*, entre otras, han mostrado efectos contra una amplia variedad de hongos filamentosos de los géneros *Fusarium*, *Aspergillus*, *Phyphthora* y *Botrytis* conocidos como fitopatógenos en diferentes cultivos de importancia comercial (Ramezani et al., 2002; Alitonou et al., 2004; Batish et al., 2008).

Además, el aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis*) especialmente el que se obtiene de la cáscara, presenta un alto contenido de monoterpenos representados en gran mayoría por el limoneno (sustancia natural que se extrae del aceite de las cáscaras de los cítricos y que da olor característico a las naranjas y los limones), y otros monoterpenos oxigenados como linalol y cineol que se encuentran en menor proporción. La mezcla de componentes de este aceite esencial ha demostrado actividad inhibitoria de crecimiento en diferentes cepas de hongos entre los que se encuentran algunas especies del género *Aspergillus* y *Penicillium* como *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium verrucosum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium digitatum* y *Penicillium itacum*, hongos que se encuentran asociados con el deterioro de alimentos y productos de poscosecha (Caccioni et al., 1998; Ruiz et al., 2002; Martos et al., 2006).

Los objetivos propuestos para el presente trabajo de investigación son los siguientes:

Objetivo general:

Evaluar el efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill.) y cáscara de naranja (*Citrus sinensis* (Linn.) Osbeck.) sobre *Fusarium* spp.

Objetivos específicos:

- a) Determinar la mejor dosis del aceite esencial de eucalipto in vitro (*Eucalyptus globulus* Labill.) y el aceite esencial de la cáscara de naranja (*Citrus sinensis* (Linn.) Osbeck.) que impida el crecimiento del hongo fitopatógeno *Fusarium* spp.
- b) Considerar la mejor dosis de las combinaciones del aceite esencial de eucalipto in vitro (*Eucalyptus globulus* Labill.) más el aceite esencial de la cáscara de naranja (*Citrus sinensis* (Linn.) Osbeck.) que inhiba el crecimiento del hongo fitopatógeno *Fusarium* spp.

Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*eucalyptus globulus labill.*) Y cáscara de naranja (*citrus sinensis linn. osbeck.*) sobre *fusarium spp.* En Puno

Materiales Y métodos.

Metodología

En el desarrollo del presente trabajo se consideraron dos fases las mismas que se detallan a continuación.

Fase de laboratorio

Siembra

Las muestras de papa con incidencia de *Fusarium spp.*, fueron previamente lavadas con abundante agua corriente y desinfectadas con hipoclorito de sodio al 2% durante 10 minutos, con el propósito de eliminar microorganismos superficiales. Dentro de la cámara de siembra, los tubérculos fueron enjuagados con agua destilada estéril y para su secado se colocaron sobre papel toalla. De cada tubérculo se cortaron porciones pequeñas con síntomas aparentes (aproximadamente 1 x 0.5 cm), los cuales fueron sembrados en placas Petri conteniendo el medio Papa Dextrosa Agar con Oxitetraciclina (PDAO). Luego las placas sembradas fueron incubadas durante 7 días a 25° C, para favorecer el desarrollo y fructificación de *Fusarium spp.*, las placas fueron colocadas sobre una mesa con iluminación artificial y a temperatura ambiente durante dos semanas, una vez obtenido el crecimiento del fitopatógeno se procedió a la purificación del mismo (Agrios, 2008).

Purificación de colonias

De los aislamientos obtenidos, se realizaron repiques a otras placas Petri con PDAO, hasta obtener el cultivo puro del hongo fitopatógeno (*Fusarium spp.*).

Identificación

Obtenido el crecimiento de las colonias respectivas, se procedió a preparar montajes para su observación a través del microscopio compuesto con la finalidad de caracterizar las estructuras morfológicas y de reproducción del fitopatógeno. El hongo fitopatógeno fue identificado haciendo uso de claves propuestos por Barrón (1968) y Barnett and Hunter (1998).

Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*eucalyptus globulus* labill.) Y cáscara de naranja (*citrus sinensis* linn. osbeck.) sobre *fusarium* spp. En Puno

Fase experimental

Obtención del aceite esencial

Los aceites esenciales se obtuvieron de las hojas de eucalipto y de la cáscara de naranja, las cuales fueron recolectadas en cantidades suficientes para la ejecución del presente trabajo de investigación. Siguiendo el método químico destilación por arrastre con vapor, propuesto por (Orgánica, 2011).

En el cuadro 2, se muestra las dosis propuestas de los aceites esenciales de eucalipto y cáscara de naranja para su evaluación como sustancias antifúngicas frente a *Fusarium* spp.

Cuadro 1: Aceites esenciales vegetales a ser empleados para el control del hongo fitopatógeno (*Fusarium* spp.).

NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTIFICO	DOSIS		
		CONTROL	BAJA	ALTA
Eucalipto	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	0%	30%	50 %
Cáscara de naranja	<i>Citrus sinensis</i> (Linn.) Osbeck.	0 %	30%	50 %

Prueba y evaluación de los aceites esenciales in vitro

En esta prueba se evaluaron el comportamiento de los dos aceites esenciales (Eucalipto y naranja). Para el efecto cada aceite esencial por separado se mezcló con el medio de cultivo (PDA) en un matraz de acuerdo a las concentraciones propuestas, luego se procedió al plaqueado. Seguidamente sobre este medio de cultivo (PDA+aceite esencial) ya plaqueado, se colocó un disco de aproximadamente 5 mm. de tamaño extraído con el sacabocados conteniendo el fitopatógeno en estudio (*Fusarium* spp.), hecho todo esto las placas Petri fueron incubados en estufa a 25°C, durante dos días, a partir de allí se procedió a evaluar el crecimiento micelial del hongo fitopatógeno en estudio, en milímetro/día con una regla estandarizada en milímetros el diámetro de crecimiento de las colonias de *Fusarium* spp., evaluación que culminó cuando el testigo (placa Petri con PDA sin aceite vegetal+*Fusarium* spp.) haya cubierto toda la superficie de la placa Petri (9 cm.) (Agrios, 2008).

Para evaluar el comportamiento de las combinaciones propuestas de los aceites vegetales esenciales de eucalipto y cáscara de naranja se realizó de la misma forma que el caso anterior (líneas arriba)

Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*eucalyptus globulus labill.*) Y cáscara de naranja (*citrus sinensis linn. osbeck.*) sobre *fusarium spp.* En Puno

es decir se prepararon las concentraciones propuestas de ambos aceites por separado luego fueron mezclados para ser introducidos en un matraz con el PDA, procediéndose luego al plaqueado y colocando sobre la placa Petri plaqueada un disco de aproximadamente 5 mm de tamaño conteniendo el fitopatógeno en estudio llevado luego a la estufa a 25°C por dos días para luego iniciar con la evaluación del crecimiento micelial del hongo en estudio (*Fusarium spp.*) con ayuda de una regla estandarizada en milímetros, culminando esta evaluación cuando el testigo haya cubierto toda la superficie de la placa Petri (9cm).

Análisis estadístico

Variables en estudio

Variable independiente

- Aceite esencial de hojas de eucalipto (E) a una concentración de: 0%, 30% y 50% y aceite esencial de cáscara de naranja (C) a una concentración de: 0%, 30% y 50%.
- Combinación del aceite esencial de hojas de eucalipto (E) más aceite esencial de cáscara de naranja a las concentraciones propuestas de (E) y (C).

Variable dependiente

Crecimiento radial en mm/día del fitopatógeno (*Fusarium spp.*) sobre placas Petri conteniendo (PDA más aceite esencial de eucalipto y PDA más aceite esencial de cáscara de naranja), así como también las evaluaciones del crecimiento radial en mm/día del fitopatógeno (*Fusarium spp.*) combinaciones de ambos aceites vegetales sobre.

Tratamientos

Cuadro 2. Tratamientos en estudio

Hojas de eucalipto	Cáscara de naranja	Tratamientos (Eucalipto + Cáscara de naranja)
E1	C1	E1C1
	C2	E1C2
	C3	E1C3
E2	C1	E2C1
	C2	E2C2
	C3	E2C3
E3	C1	E3C1
	C2	E3C2
	C3	E3C3

Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*eucalyptus globulus labill.*) Y cáscara de naranja (*citrus sinensis linn. osbeck.*) sobre *fusarium spp.* En Puno

Concentraciones en estudio

Cuadro 3. Factor en estudio.

Planta utilizada	Clave	Concentraciones
Hojas eucalipto	E1	0%
	E2	30%
	E3	50%
Cáscaras de naranja	C1	0%
	C2	30%
	C3	50%

Diseño experimental

Para evaluar el efecto inhibitorio de los aceites esenciales de hojas de eucalipto y cáscara de naranja sobre *Fusarium spp.* a tres concentraciones cada uno y la combinación de ambos aceites esenciales se utilizó el Diseño Completamente al Azar bajo un arreglo factorial de 3*3 (3 concentraciones de aceites esenciales de hojas de eucalipto E1, E2, y E3), (3 concentraciones de aceites esenciales de cáscara de naranja C1, C2 y C3), con nueve tratamientos y cuatro repeticiones haciendo un total de 36 unidades experimentales. Donde los tratamientos constituyeron las combinaciones de los niveles de factores.

El Diseño Experimental propuesto se aplicó en un solo momento cuando *Fusarium spp.* como testigo abarco el diámetro completo de la caja Petri (9 cm.).

Resultados y discusión.

Crecimiento radial (mm)/día del fitopatógeno (*Fusarium spp.*).

En el análisis de varianza realizado (tabla 2) para la última evaluación (día 7), se ha encontrado diferencias estadísticas altamente significativas para los factores en estudio (cuadro 3), donde el factor E (aceite esencial de eucalipto) y el factor C (aceite esencial de cáscara de naranja) tuvieron efectos en el crecimiento del hongo fitopatógeno *Fusarium spp.*, es decir que las dosis de cada factor tuvieron un efecto en el desarrollo del hongo. También se ha obtenido diferencias altamente

Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*eucalyptus globulus labill.*) Y cáscara de naranja (*citrus sinensis linn. osbeck.*) sobre *fusarium spp.* En Puno

significativas para la interacción E x C, lo cual indica que los factores en estudio actúan de forma dependiente sobre el crecimiento y desarrollo del hongo fitopatógeno *Fusarium spp.*

Por otro lado, el coeficiente de variabilidad (CV) fue de 1.39 %, valor que nos indica la confiabilidad de los datos logrados en el presente trabajo.

Tabla 2: Análisis de varianza para crecimiento radial (mm) del fitopatógeno (*Fusarium spp.*) al 7mo día de evaluación.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr > F
Dosis de aceite esencia de eucalipto (E)	2	10566.50000	5283.25000	7222.67	<.0001
Dosis de aceite esencia de cáscara de naranja (C)	2	276.50000	138.25000	189.00	<.0001
E x C	4	1618.00000	404.50000	552.99	<.0001
Error	27	19.75000	0.73148		
Total correcto	35	12480.75000			

CV=1.39%.

La tabla 3, muestra que la dosis E1 (Eucalipto al 0%) no tuvo mayor efecto en el crecimiento del hongo fitopatógeno con promedio de 84.7 mm. en área radial de la placa Petri, el cual es estadísticamente superior a las demás dosis de eucalipto. Por último, se ubica la dosis al E3 (50% de eucalipto), el cual si tuvo un efecto en inhibir el crecimiento del hongo fitopatógeno alcanzando un promedio de 43.7 mm. en área radial de la placa Petri, por tanto, mayor control sobre *Fusarium spp.*

Tabla 3: Prueba de Duncan al 0.01 para factor E (aceite esencial de Eucalipto) sobre el crecimiento radial del fitopatógeno (*Fusarium spp.*) al 7mo día de evaluación.

Orden de mérito	Clave	Dosis de aceite esencial de eucalipto	Crecimiento radial (mm)	Sig. 0.01
1	E1	00%	84.7	a
2	E2	30%	56.4	b
3	E3	50%	43.7	c

La tabla 4, muestra que la dosis C3 (Cáscara de naranja al 50%) no tuvo mayor efecto en crecimiento del hongo fitopatógeno con 65.2 mm promedio en área radial de la placa Petri, el cual

Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*eucalyptus globulus labill.*) Y cáscara de naranja (*citrus sinensis linn. osbeck.*) sobre *fusarium spp.* En Puno

Orden de mérito	Clave	Dosis de aceite esencial de Eucalipto x Dosis de aceite esencial de cáscara de naranja	Crecimiento radial (mm)	Sig. 0.01
1	E1C1	00% x 00%	89.8	a
2	E1C2	00% x 30%	85.0	b
3	E1C3	00% x 50%	79.3	c
4	E2C3	30% x 50%	59.5	d

es estadísticamente superior a las demás dosis de aceite esencial de cáscara de naranja. Por último, se ubica la dosis C1 (cáscara de naranja al 0%), el cual si tuvo un efecto en inhibir el crecimiento del hongo fitopatógeno alcanzando un promedio de 58.4 mm en promedio del área radial de la placa Petri, por tanto, mayor control sobre *Fusarium spp.*

Tabla 4: Prueba de Duncan al 0.01 para factor C (aceite esencial de cáscara de naranja) sobre el crecimiento radial del fitopatógeno (*Fusarium spp.*). al 7mo día de evaluación.

La tabla 5, nos muestra que el tratamiento E1C1 (Eucalipto al 0% más cáscara de naranja al 0%) tuvo mayor efecto en crecimiento con un promedio del 89.8 mm en área radial de la placa Petri, el cual es estadísticamente superior a los demás tratamientos en estudio, siguiéndole el tratamiento E1C2 (Eucalipto al 0% más cáscara de naranja al 30%) con un promedio del 85.0 mm, el tratamiento E1C3 (Eucalipto al 0% más cáscara de naranja al 50%) con un promedio del 79.3 mm en crecimiento en área radial de la placa Petri. Por último, se ubica el tratamiento E3C1 (Eucalipto al 50% más cáscara de naranja 0%), el cual si tuvo un efecto en la inhibición del crecimiento del fitopatógeno alcanzando solo un promedio del 28.8 mm en área radial de la placa Petri.

Tabla 5: Prueba de Duncan al 0.01 para la interacción E x C sobre el crecimiento radial del fitopatógeno (*Fusarium spp.*). al 7mo día de evaluación.

Orden de mérito	Clave	Dosis de aceite esencial de cáscara de naranja	Crecimiento radial (mm)	Sig. 0.01
1	C3	50%	65.2	a
2	C2	30%	61.2	b
3	C1	00%	58.4	c

Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*eucalyptus globulus labill.*) Y cáscara de naranja (*citrus sinensis linn. osbeck.*) sobre *fusarium spp.* En Puno

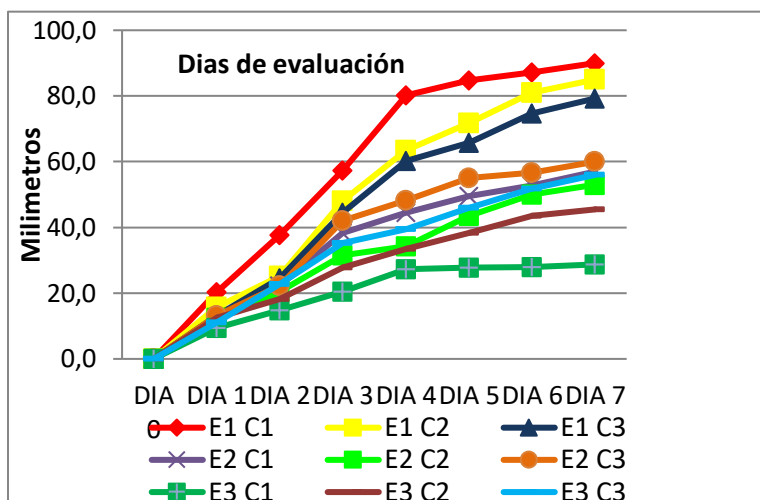
5	E3C3	50% x 50%	56.8	e
6	E2C1	30% x 00%	56.8	e
7	E2C2	30% x 30%	53.0	f
8	E3C2	50% x 30%	45.5	g
9	E3C1	50% x 00%	28.8	h

En el gráfico 1, se observa que los tratamientos en estudio tienen un efecto significativo en el crecimiento del hongo fitopatógeno *Fusarium spp.*, en forma ascendente a partir del primer día hasta el cuarto

día, a partir de ello los tratamientos tienen un crecimiento casi regular. Además, se observa en el gráfico 1 que el testigo alcanzo su máximo crecimiento a los 7 días, cubriendo el radio de la placa Petri (90 mm ó 9cm) por completo.

El tratamiento que ha destacado en la inhibición de crecimiento del hongo fue el E3C1 (combinación de 50% de eucalipto más 0% de cáscara de naranja), en el cual el crecimiento de la colonia fue quedándose a partir del día cuatro, al día siete habiendo alcanzado un radio promedio de 28.8 mm., seguido del tratamiento E3C2 (50% de eucalipto más 30% de cáscara de naranja), que alcanzó un promedio de 45.5 mm de radio.

Gráfico 1: Crecimiento radial (mm/día) de *Fusarium spp.* Durante 7 días de evaluación.



Los resultados logrados en el presente trabajo son abalados por (Harbone, 1998), quien señala que dentro de los metabolitos secundarios con actividad fungicida se encuentran los provenientes de la

Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*eucalyptus globulus labill.*) Y cáscara de naranja (*citrus sinensis linn. osbeck.*) sobre *fusarium spp.* En Puno

fracción líquida volátil que contiene las sustancias responsables del aroma de las plantas o aceites esenciales.

Estos resultados logrados probablemente se deban porque los aceites esenciales son conocidos por ejercer actividad antimicrobiana (Chaibi et al., 1997) (Murillo et al., 2002) (Ramezani et al., 2002) (Mesa et al., 2004) (Sacchetti et al., 2005) (Senhaji et al., 2005) (Schelz et al., 2006) (Inouye et al., 2006) (Barreto et al., 2006). Aunque el mecanismo por el cual actúan no está totalmente entendido, puede involucrarse en este la destrucción de la membrana microbiana por los constituyentes lipofílicos que poseen (Schelz et al., 2006) (Keeler, 1991) y estudios recientes reportan otros efectos como cambios en la morfología del hongo que incluyen daños sobre estructuras como conidias, macroconidias e hifas, así como la disminución en la producción de micotoxinas (Park et al., 2009).

Así como también en las plantas del género *Eucalyptus* se obtiene varios aceites esenciales, extractos e infusiones con actividad antimicrobiana, compuestos principalmente por el componente activo 1,8-cineol que se encuentra en un rango de concentración entre el 54 % y 95% (Mellado et al., 1998), muchas especies de este género, entre las que se incluyen *E. camandulensis*, *E. citriodora*, *E. globulus*, *E. tereticornis*, *E. robusta*, entre otras, han demostrado efectos contra una amplia variedad de hongos filamentosos de los géneros *Fusarium*, *Aspergillus*, *Phyphthora* y *Botrytis* conocidos como fitopatógenos en diferentes cultivos de importancia comercial (Ramezani et al., 2002) *Fusarium oxysporum* Schlechtend. *F. sp. lycopersici* Sacc. (Snyder y Hansen, 2004) (Batish et al., 2008), además, el aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis*) especialmente el que se obtiene de la cáscara, presenta un alto contenido de monoterpenos representados en gran mayoría por el limoneno y otros monoterpenos oxigenados como el linalol y cineol que se encuentran en menor proporción. La mezcla de componentes de este aceite esencial ha demostrado actividad inhibitoria de crecimiento en diferentes cepas de hongos entre los que se encuentran algunas especies del género *Aspergillus* y *Penicillium* como *A. niger*, *A. flavus*, *P. verrucosum*, *P. digitatum* y *P. italicum*, hongos que se encuentran asociados con el deterioro de alimentos y productos de poscosecha (Caccioni et al., 1998) (Ruiz et al., 2002) (Martos et al., 2006).

Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*eucalyptus globulus labill.*) Y cáscara de naranja (*citrus sinensis linn. osbeck.*) sobre *fusarium spp.* En Puno

Conclusiones

A los siete días de evaluación el tratamiento E3= (Eucalipto al 50%) tuvo menor crecimiento de la colonia de *Fusarium spp.*, con 43.7 mm. promedio del área radial de la placa Petri y el tratamiento C1= (Cáscara de naranja al 0%) tuvo un crecimiento menor de la colonia de *Fusarium spp.*, con 58.4 mm en promedio del área radial de la placa Petri, A los siete días de evaluación el tratamiento E3= (Eucalipto al 50%) posee menor crecimiento de la colonia del hongo fitopatógeno *Fusarium spp.*, con 43.7 mm. promedio del área radial de la placa Petri y el tratamiento C1= (Cáscara de naranja al 0%) tuvo un crecimiento menor de la colonia de *Fusarium spp.*, con 58.4 mm en promedio del área radial de la placa Petri.

A los siete días de evaluación de las combinaciones de eucalipto más cáscara de naranja el tratamiento E3C1= (Eucalipto al 50% + Cáscara de naranja al 0%) posee menor crecimiento de la colonia de *Fusarium spp.*, con un promedio del 28.8 mm., del área radial de la placa Petri, en consecuencia, los tratamientos E3 y E3C1 tuvieron el mejor control sobre el hongo fitopatógeno *Fusarium spp.*

Referencias

1. Agrios, G.N. (2008). Patología Vegetal. Quinta Edición. ELSEVIER. Florida, Estados Unidos de América.
2. Alitonou, GA; Wotto DV; Ahoussi, E.; Dangou, J.; Sohounhloué, E.; Dominique, CK. (2004). Composición Química, Propiedades Antimicrobianas Activas del *Eucalyptus tereticornis*, Egipto.
3. Chaibi, A. B; Boucetta, B; Giuseppe, R. 1997. La inhibición del crecimiento vegetativo y germinación de *Bacillus cereus* T y esporas de *Clostridium botulinum* 62 A por los aceites esenciales, Microbiología de los alimentos. 45 p.
4. Batish, RD; Singh, PH; Kohli, KR; Kaur, S. (2008). Aceites esenciales del Eucalipto como un pesticida natural. Ecología Forestal y Manejo. Canadá.
5. Barriga, N.E. (1997). Enfermedades fungosas en tubérculos-semillas de papa almacenadas. Tesis Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Altiplano. Puno, Perú.

Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*eucalyptus globulus labill.*) Y cáscara de naranja (*citrus sinensis linn. osbeck.*) sobre *fusarium* spp. En Puno

6. Barreto, A. G.; Velásquez, P. B.; Peña, M.Y.; Rodríguez T. H. 2006. Evaluación in vitro de extractos de *Eucalyptus citriodora* Hook y *Eucalyptus saligna* Sm como posibles antisépticos mamarios, revista. producción animal.
7. Caccioni RL; Guizzardi, M.; Biondi, DM; Renda, A.; Giuseppe, R. (1998). Relación entre los componentes volátiles de los aceites esenciales de cítricos y de la acción antimicrobiana de *Penicillium digitatum*. Y *Penicillium italicum*. International Journal of Food Microbiología.
8. Cowan, M.M. (1999). Productos de origen vegetal como agentes antimicrobianos, Clínica microbiana. EE.UU.
9. De Lucca, A.; Walsh, T. (1999). Péptidos antifúngicos: nuevos compuestos terapéuticos contra patógenos emergentes, quimioterapia agentes antimicrobianos. EE.UU.
10. Dixon, R. 2001. Productos naturales y la resistencia a las enfermedades vegetales. De la naturaleza. EE:UU. 42 p.
11. Farnsworth, NR; Akerele, O.; Bingel, AS; Soejarto. (1985). Planta Medicinal en la terapia, Bull Org. Mundial de la Salud.
12. Garces, E.; Orozco. M.; Bautista, G.; Valencia, H. (2001). *Fusarium oxysporum* el hongo que nos falta conocer. Acta Biológica Colombiana. 6,(1):
13. Inouye, S.; Uchida, K.; Abe, S. 2006. Composición volátil y de la actividad vapor contra *Trichophyton mentagrophytes* de 36 hierbas aromáticas cultivadas en Chichibu distrito de Japón, revista internacional de la Aromaterapia.
14. Keeler, R. F. and TU. A. T. 1991. Eds. Toxicología de compuestos de plantas y hongos. (Manual de Toxinas Naturales vol. 6) Marcel Dekker, Inc. Nueva York.
15. Mellado, E.; Cuenca, E.M.; Rodríguez, J. (1998). Importancia clínica de los mecanismos de resistencia de los hongos filamentosos a los antifúngicos, Unidad de Micología, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III. Madrid, España.
16. Mesa, A.C.; Bueno, J.G.; Betancur, L.A. (2004). Productos naturales con actividad antimicótica, Revista española de quimioterapia. España.
17. Martos, VM; Ruiz, NY; Fernández, LJ; Pérez, AJ. (2006). La actividad antifúngica de limón (*Citrus limon* L.), mandarina (*Citrus reticulata* L.), toronja (*Citrus paradisi* L.) y naranja (*Citrus sinensis* L.) los aceites esenciales. Control de los Alimentos.
18. Murillo, E.; Villa, A.; Linares, A. 2002. Composición química, actividad insecticida y fungicida de *Ocimum micranthum*, Revista colombiana de entomología. 28 (1).

Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*eucalyptus globulus labill.*) Y cáscara de naranja (*citrus sinensis linn. osbeck.*) sobre *fusarium* spp. En Puno

19. Osbourn, A.E. (1999). Plantas protectoras y hongos patógenos: un comentario. Venezuela.
20. Park, M.J.; Gwaka, K. S.; Yang, K.W.; Kim, E.B.; Jeung, J.W.; Chang, I. G.; Choi, A. 2009. Efecto de citral, eugenol, nerolidol y α – terpineol sobre los cambios ultraestructurales de *Trichophyton mentagrophytes*. *Fitoterapia* 8.
21. Ramezani, Singh, Batish, Kohli. (2002). Actividad antifúngica de los aceites volátiles de *Eucalyptus citriodora*, *Fitoterapia*. 10 p.
22. Ruiz, N.Y.; Martos, M.V.; Fernández, L.J.; Pérez, A.J. (2002). Composición química y capacidad antifúngica de los aceites esenciales de mandarina (*Citrus reticulate L*) y pomelo (*Citrus Paradisi L*). *Alimentación equipos y tecnología*.
23. Selitrennikoff, C.P. (2001). Proteínas Antifúngicos. *Microbiana ambiental*. EE.UU.
24. Senhaji, O.; Faid, M., Elyachioui, M., Dehhaoui, M. 2005. Estudio de la actividad antifúngica de varios extractos de canela, *micología revista médica*. 15. 45p.
25. Sacchetti, G.; S. Maietti; M. Muzzoli; M.Scaglianti; S. Manfredini, M. Radice; R.Bruni. 2005. Evaluación comparativa de 11 aceites esenciales de origen diferente como el análisis funcional y especial de las epidemias causadas por las especies en el género antioxidante, antiradicales y antimicrobianos en los alimentos. *Food Chem*.Alemania.
26. Schel, Z., Molnar, J.; Hohmann, J. 2006. Las actividades antimicrobianas y antiplasmidicas de aceites esenciales, *fitoterapia*. 25 p.
27. Snyder, y Hansen. 2004. El concepto de especie en *Fusarium*.
28. Taylor, C.B. (1998). Las respuestas de defensa en plantas y animales. EE.UU.
29. Vepoorte, R. (1998). Exploración de Quimiodiversidad de la naturaleza: el papel de los metabolitos secundarios como líder en el desarrollo de fármacos, drogas descubrimiento hoy en día. EE: UU.
30. Zavaleta, E. 2000. La valoración de los servicios ambientales perdidos a la invasión de *Tamarix* en los Estados Unidos. En H.A. Mooney y R.J. Hobbs, eds. *Especies Invasoras en un mundo cambiante*. Washington, DC: Island Press. 18 p.