



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD



AT 2025-FFBB-004

CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **Informe final de tesis** es:

Evaluación fitoquímica, estudio morfo–histológico y actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON frente a *Fusarium sp.*

Presentado por:

MEDINA FLORES, SILVIA ALEJANDRA

Bachiller del nivel **PREGRADO** de la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es **0%** por el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Con Código de Matrícula: 20171099

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad. Observaciones:

Ica, 21 de enero de 2025

.....
Dr. PEÑA GALINDO JULIO JOSE
DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Farmacia y Bioquímica



Evaluación fitoquímica, estudio morfo–histológico y actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON frente a *Fusarium sp.*

Línea de Investigación: Salud Pública y Conservación del medio ambiente

Informe final de Tesis

Autor

BACH. MEDINA FLORES SILVIA ALEJANDRA

Ica – Perú

2024

Dedicatoria

A Dios, quién hasta el día de hoy sigue guiando mis pasos.

A mis padres Víctor y Beatriz por todo su esfuerzo y dedicación puesta en mí, por brindarme siempre su apoyo, comprensión, amor y valores para ser la persona quien ahora soy.

A mi hermano Víctor, por estar siempre a mi lado dándome fuerzas para seguir adelante y poder cumplir cada sueño anhelado y no darme por vencida en los momentos más difíciles.

A mis abuelos Humberto, Tomás y Silvia que desde el cielo siempre están conmigo cuidándome.

Agradecimientos

Esta tesis es el resultado del esfuerzo conjunto

Expreso mi especial agradecimiento a mis asesores, la Dra Q.F Santos Haydee Chávez Orellana, la Dra Q.F Aura Molina Cabrera y al Blgo. Alex de Jesús Bendezú Ramos grandes profesionales y personas dignas de admirar a quienes les debo gran parte de mis conocimientos adquiridos gracias a su paciencia y enseñanza voluntaria e incondicional durante todo este proceso.

A mi alma mater, Universidad Nacional “San Luis Gonzaga”, esta prestigiosa universidad la cual abrió sus puertas a jóvenes como a mí, preparándonos para un futuro competitivo y formándonos como personas de bien.

A mis amigos que siempre me acompañan y me brindan su apoyo en lo buenos y malos momentos, juntos superando muchos obstáculos que se nos presentan a lo largo de todo este camino de preparación universitaria.

A los estudiantes de la Asociación Científica de Investigación Farmacéutica: ACIF por todo su apoyo y momentos compartidos de aprendizajes y confraternidad en los laboratorios en todo este proceso de realización de mi tesis.

ÍNDICE

RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	9
1.1. Descripción de la realidad problemática.....	10
1.2. Antecedentes de la Investigación.....	11
1.3. Justificación de la Investigación.....	13
1.4. Objetivos de la Investigación	14
1.5. Marco Teórico	15
II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA.....	26
2.1. Tipo, Nivel y Diseño de la Investigación.....	26
2.2. Lugar de Investigación.....	26
2.3. Materiales	26
2.4. Hipótesis y Variables	29
2.5. Población y Muestra	30
2.6. Métodos técnicos y procedimientos de recolección de Datos.....	30
2.7. Técnicas de Procesamientos de la Información	47
2.8. Aspectos Éticos.....	47
III. RESULTADOS	48
IV. DISCUSIÓN.....	63
V. CONCLUSIONES.....	67
VI. RECOMENDACIONES	68
VII. REFERENCIAS BBLIOGRÁFICAS	69
VIII. ANEXOS.....	78

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Concentraciones utilizadas de las fracciones derivadas del extracto etanólico de las hojas de <i>Tecoma fulva</i> (CAV) G.DON en el ensayo preliminar para la Concentración Mínima Inhibitoria..	45
Tabla 2. Concentraciones utilizadas de las fracciones derivadas del extracto etanólico de las hojas de <i>Tecoma fulva</i> (CAV) G.DON en el ensayo para la Concentración Mínima Inhibitoria.	46
Tabla 3. Metabolitos Secundarios en los extractos de las fracciones derivadas del extracto etanólico de las hojas de <i>Tecoma fulva</i> (CAV) G.DON.....	48
Tabla 4. Tamizaje histoquímico de las hojas de <i>Tecoma fulva</i> (CAV) G.DON.....	53
Tabla 5. Inhibición del crecimiento micelial (ICM) de <i>Fusarium sp.</i> frente a controles y fracciones obtenidas.	55
Tabla 6. Evauación de la inhibición del cremimiento radial (ICR) de <i>Fusarium sp.</i> frente a los controles y fracciones obtenidas, en el 9no día de incubación.	56
Tabla 7. Estadísticos básicos de los diámetros de crecimiento radial en centímetros de <i>Fusarium sp.</i> mediante el Método Tukey	57
Tabla 8. Diámetros de crecimiento radial de <i>Fusarium sp.</i> mostrando las diferencias significativas entre las fracciones y controles evaluados.....	58
Tabla 9. Resultados preliminares de la Inhibición del crecimiento micelial (ICM) de <i>Fusarium sp.</i> con las fracciones obtenidas a diferentes concentraciones y controles evaluados.....	60
Tabla 10. Resultados determinantes de la Inhibición del crecimiento micelial (ICM) de <i>Fusarium sp.</i> con las fracciones obtenidas a diferentes concentraciones y controles evaluados.....	61
Tabla 11. Promedios del recuento de conidias en las placas resultantes de la evaluación de la inhibición del crecimiento radial de <i>Fusarium sp.</i> con las fracciones derivadas del extracto etanólico de las hoja de <i>Tecoma fulva</i> (CAV) G.DON al 3% y con los controles	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fotografía de <i>Tecoma fulva</i> (CAV) G.DON - Distrito de Yauca del Rosario - Molletambo - Ica.....	15
Figura 2. Planta de la especie <i>Tecoma fulva</i> (CAV) G.DON.....	16
Figura 3. Origen de los tejidos primarios y secundarios a partir del meristemo apical caulinar y meristemo apical radical.....	19
Figura 4. Morfología de <i>Fusarium oxysporum</i> f.....	23
Figura 5. Ciclo de la enfermedad de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>lucoperseci</i>	24
Figura 6. Lugar de recolección (Molletambo – Ica)	31
Figura 7. Flujograma del Screening Fitoquímico de <i>Tecoma fulva</i> (CAV) G. DON.....	36
Figura 8. Flujograma de la replicación de cepa madre a cepas fúngicas de <i>Fusarium sp</i>	40
Figura 9. Flujograma de la evaluación cualitativa.	42
Figura 10. Flujograma de la evaluación cuantitativa	44
Figura 11. Planta de <i>Tecoma fulva</i> (CAV) G.DON.....	49
Figura 12. Órganos vegetales de <i>Tecoma fulva</i> (CAV) G.DON	50
Figura 13. Corte transversal de la hoja de <i>Tecoma fulva</i> (CAV) G.DON	52
Figura 14. Corte transversal de la raíz de <i>Tecoma fulva</i> (CAV) G.DON.....	54
Figura 15. Diámetro de crecimiento en centímetros de <i>Fusarium sp.</i> frente a los controles y fracciones obtenidas	56
Figura 16. Representación gráfica en cajas de las medias de crecimientos e intervalo de confianza entre los tratamientos.....	58
Figura 17. Prueba simultánea de Tukey para diferencias entre las medias de las fracciones y controles evaluados	59

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue: Evaluar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON frente a *Fusarium sp.*, identificar sus metabolitos secundarios y estudiar su morfo-histología. El extracto etanólico obtenido por maceración y reflujo, se llevó a un fraccionamiento efectuándose un screening fitoquímico. Se estudió la morfo-histología e identificaron los metabolitos secundarios en tejidos. La actividad antifúngica se realizó mediante la técnica de medio envenenado, realizándose una evaluación cuali-cuantitativa al 3%, recuento de conidias y la CMI de cada fracción.

Como resultados se identificaron los siguientes metabolitos secundarios: flavonoides, taninos, grupos fenólicos libres, aminoácidos, triterpenos y/o esteroides, alcaloides y catequinas. El estudio morfo-histológico describe a la especie, como una planta arbustiva de raíz típica con tallo ramificado, hojas compuestas, dentadas de color verde-grisáceos, flores tubulosas de color rojo-anaranjado y su fruto en forma de vainas con semillas aladas; en el corte histológico de sus hojas se observaron los tejidos protectores, de conducción, sostén y elaboración. En los tejidos se identificaron los metabolitos: Taninos, alcaloides, oxalatos, saponinas, celulosa y mucílagos. En relación a la actividad antifúngica, la fracción C tuvo una inhibición total de 100%, las fracciones A, B y D, una inhibición alta con 84%, 76% y 74% respectivamente y la E una baja inhibición con 21%, encontrando diferencias significativas entre las fracciones y el control negativo ($P > 0.05$). Se concluye que *Tecoma fulva* (CAV) G.DON, representan una alternativa para el control del hongo fitopatógeno *Fusarium sp.* determinándose su efectividad *in vitro*.

Palabras claves: Antifúngica, *Fusarium sp*, extracto etanólico, morfo-histológico, *Tecoma fulva* (CAV) G.DON.

ABSTRACT

The objective of this study was: To evaluate the in vitro antifungal activity of the ethanolic extract of the leaves of *Tecoma fulva* (CAV) G.DON against *Fusarium* sp., identify its secondary metabolites and study its morpho-histology. The ethanolic extract obtained by maceration and reflux was carried out for fractionation and a phytochemical screening was carried out. Morpho-histology was studied and secondary metabolites were identified in tissues. The antifungal activity was carried out using the poisoned medium technique, performing a qualitative-quantitative evaluation at 3%, conidia count and the MIC of each fraction.

As results, the following secondary metabolites were identified: flavonoids, tannins, free phenolic groups, amino acids, triterpenes and/or steroids, alkaloids and catechins. The morpho-histological study describes the species as a bushy plant with a typical root with a branched stem, compound, toothed, greyish-green leaves, red-orange tuberos flowers and its fruit in the form of pods with winged seeds; In the histological section of its leaves, the protective, conduction, support and elaboration tissues were observed. The metabolites were identified in the tissues: Tannins, alkaloids, oxalates, saponins, cellulose and mucilage. In relation to antifungal activity, fraction C had a total inhibition of 100%, fractions A, B and D, a high inhibition with 84%, 76% and 74% respectively and fraction E a low inhibition with 21%, finding significant differences between the fractions and the negative control ($P>0.05$). It is concluded that *Tecoma fulva* (CAV) G.DON, represent an alternative for the control of the phytopathogenic fungus *Fusarium* sp. determining its effectiveness in vitro.

Keywords: Antifungal, *Fusarium* sp., ethanolic extract, morpho-histological, *Tecoma fulva* (CAV) G.DON.

I. INTRODUCCIÓN

En todo el mundo y en cada rincón desconocido de nuestro país, existe una gran diversidad de plantas medicinales de usos tradicionales empíricos que han venido usándose desde tiempos ancestrales, con el paso del tiempo y el desarrollo de las nuevas tecnologías han permitido realizar estudios científicos con éxito, haciendo que gran variedad de familias vegetales tengan un importante valor terapéutico siendo fuente de recursos utilizados para prevenir, diagnosticar y mejorar el curso de enfermedades en el campo medicinal, industrial, agrícola, etc. De las 250 000 especies vegetales que existe a nivel mundial, un 10% se encuentran en nuestro país donde parte de las plantas medicinales exportadas a países extranjero corresponde al 45% proveniente de la selva, 36% de la sierra y un 16% de nuestra costa peruana ⁽¹⁾. Así mismo, debido al gran porcentaje de plantas que existen sin estudio científicos que avalan su utilidad, actualmente se viene trabajando en ello fomentando su investigación con respecto a su identificación, morfología e histología junto con su extracción de metabolitos secundarios que son responsables de tener una actividad farmacológica que con previos análisis son utilizados en calidad de principios activos o excipientes en la elaboración y desarrollo de nuevos productos farmacéuticos ^{(1) (2)}.

El desarrollo del sector agrícola en los últimos años en nuestro país y sobre todo en la región Ica, ha ido creciendo extraordinariamente gracias al avance científico y tecnológico en la producción de gran variedad de cultivos que de una manera reducen la pobreza alimentando a la población humana, siendo fuente de nutrientes que son sumamente primordiales para gozar de una buena salud y bienestar humano. Sin embargo, esta producción ha venido siendo presa de enfermedades, plagas y malas hierbas causadas por distintos tipos de patógenos dentro de los cuales se encuentran los hongos fitopatógenos, que son responsables de grandes pérdidas de plantaciones en proceso de cosecha y postcosecha, entre ellos podemos citar los siguientes géneros: *Fusarium*, *Giberella*, *Rhizoctonia*, *Verticillium*, *Alternaria* y *Botrytis*, entre otros ⁽³⁾. Este es un problema muy recurrente en cualquier temporada del año, pues estos patógenos tienden a invadir el tejido vegetal y logran expandirse en su totalidad debido a su fácil reproducción y por las condiciones climáticas que benefician su crecimiento. Para contrarrestar ello, las empresas agrícolas hacen uso de pesticidas para prevenir, matar o inhibir estos hongos fitopatógenos, sin embargo, no toman conciencia del impacto poco beneficiosos que estos generan ⁽⁴⁾. Por lo expuesto anteriormente nuestro objetivo fue “evaluar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON frente a *Fusarium sp.*, identificar sus metabolitos secundarios y estudiar su morfo-histología”.

1.1. Descripción de la realidad problemática

Nuestra rica y amplia flora peruana aún no ha sido investigada en su totalidad, en cada lugar existe especies que no se le ha dado la debida importancia biológica y química por falta de información científica en la cual se sustente su utilidad, sin embargo, estas son usadas tradicionalmente por pobladores según sus creencias de sus antepasados para aliviar una variedad de enfermedades sin saber si están haciendo o no un buen uso de ello.

La especie *Tecoma fulva* (CAV) G.DON, es un arbusto poco conocido de la región Ica que crece en abundancia en el centro poblado de Molletambo en el distrito de Yauca del Rosario, los pobladores de dicha localidad no le dan ningún uso medicinal ya que se refieren a ello como “mala hierba”, en la literatura revisada se dice que es usada para evitar la erosión, como hábitat para otras especies y como materia para fabricación de flechas y cercos como planta ornamental ⁽⁵⁾.

Por otro lado, nuestro país también cuenta con una gran variedad de cultivos en frutas, verduras, hortalizas, cereales, entre otros, que nos benefician diariamente en la alimentación, sustento y exportación, la cual en los últimos años se ha visto afectado por agentes dañinos llamados hongos fitopatógenos, como el género *Fusarium sp.* que se encuentra en todo el mundo causando pudriciones de raíces y tallos de diversas plantaciones de cultivos como tomate, avena, maíz, papa, plátano, palta y mango. La enfermedad se manifiesta por la marchitez de las ramas, el amarillento de las hojas que finalmente genera un marchitamiento general desde la raíz hasta las flores y esto debido a que ocasiona un bloqueo en el sistema vascular y por ende una obstrucción en el desplazamiento de la sabia bruta, quedando la planta sin nutrientes para su adecuado desarrollo. Es así que este hongo provoca pérdidas desmedidas en la producción y comercialización de los cultivos, desmejorando así la calidad de sus cosechas y del producto agrícola ⁽⁶⁾.

Debido a esto, las pequeñas y grandes empresas agrícolas ven como única solución para el control de esta problemática el uso de productos químicos sintéticos que hasta el día de hoy siguen siendo cuestionado debido a su alto costo y principalmente por los efectos adversos altamente tóxicos que genera en el medio ambiente produciendo toxicidad residual, resistencia y aparición de nuevos fitopatógenos y sobre todo generando graves efectos en las personas expuestas a estos agentes y en los productos finales alimentarios que se obtiene para el consumo humano ⁽⁷⁾.

1.2. Antecedentes de la investigación

Internacionales

Alekhlya V *et al.* en el año 2022, publicaron un estudio cuyo objetivo fue identificar los metabolitos, evaluar la actividad antioxidante, antiinflamatoria y antibacteriana del extracto etanólico de *Tecoma gaudichaudi*. El efecto antioxidante se midió utilizando el ensayo DPPH y la actividad antibacteriana se realizó por el método de difusión en discos utilizando ciprofloxacino (50 ug/ml) como control positivo. Se demostró que el extracto tuvo actividad antibacteriana contra *S. Aureus*, *B. Subtilis*, *P. Vulgaris* y *E. coli*, los valores de concentración inhibitoria media (IC50) de la actividad antioxidante fue de 21 mg/ml y para el estudio antiinflamatorio, los extractos mostraron una zona de inhibición entre 58,97 y 72,35 µg/ml en comparación con la indometacina. En la evaluación fitoquímica se identificaron saponinas, flavonoides, triterpenos y fenoles. Se concluye que el extracto etanólico de *Tecoma gaudichaudi* muestra importantes propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antibacterianas ⁽⁸⁾.

Lerma Kerlyn en el año 2022, realizó una tesis que tuvo como objetivo diferenciar histológicamente hojas y peciolo de 10 especies, dentro de ellas, de la familia *Bignoniaceae*. Para ello, las muestras fueron fijadas en FAA, se realizaron manualmente cortes transversales y se aclararon con hipoclorito de sodio al 5%, así también, se tiñó con safranina y azul de metileno. En las hojas de *Tecoma stans*, presentó una epidermis adaxial con células grandes y redondeadas, con una cutícula gruesa y tricoma y estomas glandulares; en el peciolo de *Tecoma stans*, presentó una epidermis uniestratificada que presentaba tricomas glandulares y pluricelulares simples, el floema rodeaba la xilema y presentaba un parénquima medular. Se concluye que la familia *Biognoniaceae* presenta diferencias histológicas significativas ⁽⁹⁾.

Mucuy Anand *et al.* en el año 2021, publicó un estudio que tuvo como objetivo revisar la información disponible sobre etnofarmacología, distribución geográfica, composición química, fitoquímica y efectos terapéuticos de *Tecoma stans*. Para ello se recopiló información a partir de una búsqueda bibliográfica en base de datos virtuales como Science Direct, PubMed, Springer, Google Scholar y Scopus. Como resultado se describió que se han aislados más de 120 compuestos químicos, dentro de ellos destacan: alcaloides, ácidos fenólicos, flavonoides y ácidos grasos. Dentro de sus beneficios terapéuticos, se cita: hipoglucemiante, antiinflamatoria, anticancerígena, antibacteriana, antifúngica, antioxidante, hepatoprotectora y cicatrizantes. Finalmente, se concluye que *Tecoma stans* tiene muchos

potenciales ocultos que pueden estudiarse ampliamente por sus fitoconstituyentes y efectos terapéuticos ⁽¹⁰⁾.

Christopher Iarbi *et al.* en el año 2019, publicó un estudio que tuvo como objetivo detectar los fitoconstituyentes, actividad antioxidante, análisis de metales pesados, así como la toxicidad aguda y subcrónica del extracto hidroetanólico de las hojas de *Tecoma stans*. Se obtuvo como resultado la presencia de flavonoides, alcaloides, glucósidos cardíacos, saponinas, cumarinas y terpenoides en la hoja cruda de la planta, mientras que en el extracto hidroetanólico se detectó cumarinas, saponinas, glucósidos cardíacos y flavonoides. El porcentaje de actividad eliminadora de DPPH del extracto crudo fue del 64,32 %, mientras que las fracciones, acetato de etilo (55,26 %), metanol (60,72 %) e hidro (36,97 %), dieron actividades variables. El análisis de metales pesados mostró un alto nivel de hierro (Fe) y zinc (Zn) en la hoja cruda y la toxicidad agua media del extracto fue de <5000 mg/kg de peso corporal en ratones. Finalmente, se concluyó que las hojas de *Tecoma stans* contienen fotoquímicos responsables de muchas actividades farmacológicas y que no tienen ningún efecto tóxico razón ⁽¹¹⁾.

Nacionales

Chávez Fernández *et al.* en el año 2023, publicó un estudio que tuvo como objetivo evaluar el perfil fitoquímico, antimicrobiano y tóxico de los extractos orgánicos de las hojas de *Tecoma fulva subsp. Arequipensis*. La actividad antimicrobiana se realizó en bacterias: *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa*. Se obtuvo como resultado la presencia de alcaloides, saponinas, terpenos, flavonoides, sesquiterpenlactonas, quinonas y cumarinas. Las cepas que mostraron alta sensibilidad al extracto con acetato de etilo fueron: *E. coli* con un diámetro de inhibición de $17,00 \pm 0,19$ mm y *P. aeruginosa* con $18,00 \pm 0,19$ mm. Las cepas que mostraron mediana sensibilidad fueron: *S. aureus* con diámetro de inhibición de $21,00 \pm 1,05$ mm, *E. faecalis* con $19,00 \pm 0,26$ mm y *K. pneumoniae* con $18,00 \pm 0,23$ mm. La dosis letal media en *A. salina* fue de 117.41 ppm considerado tóxico. Finalmente se concluye que la *T. fulva Arequipensis* actúa como un bacteriostático ⁽¹²⁾.

Vásquez Izquierdo *et al.* en el año 2020, realizaron una tesis que tuvo como objetivo determinar el cribado fitoquímico y la actividad antirradicalaria del extracto etanólico de las hojas de *Tecoma stans (L.) Juss. Ex Kunth*. Se realizó la prueba de DPPH para demostrar la capacidad antirradicalaria. Se obtuvo como resultado la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos, en cuanto a la actividad antioxidante, presentó una IC50 del extracto (0,2975%) y

con una capacidad de inhibición de radical DPPH (64,32%). Concluyéndose que el extracto etanólico representa una alternativa natural como con actividad antioxidante ⁽¹³⁾.

Tupayachi Herrera en el año 2016, realizó una investigación que tuvo como objetivo realizar descripciones morfológicas, establecer el sistema morfológico, determinar sus condiciones climáticas y flora acompañante de tres plantas: *Eriotheca vagarse*, *Tecoma fulva* y *Poissonia orbicularis*. Se obtuvo como resultado que la especie *Tecoma Fulva* (Cav.) G. Don, es un arbusto de 1.50 a 2.50 m de altura, presenta tallos lenticelados con pocas ramificaciones. Hojas son compuestas con 11 foliolos. Flores pentámeras con cáliz reducido y corola tubular de color rojo anaranjado con 4 estambres amarillos. El fruto es una cápsula lineal y sus semillas la describen como aplanadas con membranas alares. Se concluye que las especies estudiadas son de un valor científico muy importante para los estudios fitogeográficos, ecológicos y botánicos, dándoles así un agregado valor cultural ⁽¹⁴⁾.

1.3. Justificación de la investigación

Debido a que solo existe investigaciones de la familia y otros géneros de *Tecoma* y por el casi nulo reporte de estudios biológicos, químicos, propiedades terapéuticas y sobre la actividad antifúngica que existe en las bases de datos con respecto a la especie *Tecoma fulva* (CAV) G.DON, se busca identificar cualitativamente los metabolitos secundarios mediante un tamizaje fitoquímico en las 5 fracciones extraídas con diferentes solventes e identificar mediante ello que nuevos usos farmacológicos de importancia biológica e industrial se le pueden atribuir, contribuyendo así a la medicina tradicional y darle una mayor importancia a esta especie y que no solo sea vista como “mala hierba”, asimismo, el realizar el estudio morfo–histológico es primordial para identificar y diferenciar correctamente la especie debido a que existe gran variedad de ellas con mínimas diferencias en todo el país y de este modo poder evitar una adulteración de la materia prima. Así también, con respecto a la problemática de la gran pérdida que sufren algunos cultivos por el ataque del hongo fitopatógeno *Fusarium sp.* y por su control discriminado con agroquímicos, mediante este trabajo de investigación se busca obtener un extracto que con sus metabolitos secundarios represente una alternativa natural para hacerle frente no solo a los daños producidos por enfermedades de origen fúngico sino también a los males de los fungicidas químicos, de esta manera también despertando el interés de las empresas agrícolas por el uso de fungicidas naturales obteniendo alimentos de origen orgánico libres de pesticidas químicos, con un tratamiento de sus cultivos a menor costo, accesible y amigable con el medio ambiente impulsando así la economía del sector.

1.4. Objetivos de la investigación

a) Objetivo general:

Evaluar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON frente a *Fusarium sp.*, identificar los metabolitos secundarios a la que se le atribuirá dicha actividad y estudiar morfo-histológicamente la especie *Tecoma fulva* (CAV) G.DON.

b) Objetivos específicos:

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en la evaluación fitoquímica del extracto etanólico crudo (fracción a) y de sus fracciones derivadas de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON.
- Determinar las características morfo-histológica presente en la especie *Tecoma fulva* (CAV) G.DON.
- Evaluar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico crudo (fracción a) y de sus fracciones derivadas de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON frente a *Fusarium sp.*
- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico crudo (fracción a) y de sus fracciones derivadas de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON en la evaluación de la actividad antifúngica *in vitro* frente a *Fusarium sp.*
- Determinar la inhibición de formación de conidias del extracto crudo (fracción a) y de sus fracciones derivadas de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON evaluadas con *Fusarium sp.*

1.5. Marco teórico

1.5.1. *Tecoma fulva* (CAV) G.DON “cahuato”

- **Género *Tecoma***

El género *Tecoma*, es un grupo amplio de especies que se encuentran distribuidas en el sur de África y en la América tropical, siendo las especies andinas distribuidas en nuestro país en la regiones más secas, costeras e interandinas, también se pueden localizar todo el año entre los valles de Perú y Bolivia ⁽¹⁵⁾.

- **Clasificación taxonómica**

De acuerdo al sistema de clasificación de Arthur Cronquist (1988) la especie es estudio se ubica en la siguiente categoría taxonómica.

REINO: *Plantae*

DIVISIÓN: *Magnoliophyta*

CLASE: *Magnoliopsida*

ORDEN: *Lamiales*

FAMILIA: *Bignoniaceae*

GÉNERO: *Tecoma*

ESPECIE: *Tecoma fulva* (CAV) G.DON

NOMBRE VULGAR: “chuve/cahuato”



Figura 1. Fotografía de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON - Distrito de Yauca del Rosario - Molletambo - Ica.

- **Descripción morfológica**

Tecoma fulva (CAV) G.DON, es un arbusto que suele alcanzar 1.50 hasta 4 m de altura, crece con múltiples tallos que pueden desarrollar en sentido vertical o arqueado. Sus hojas presentan un raquis pronunciado en forma de ala con 5 a 11 folíolos delgados al tacto, tienen un ápice agudo y contorno ovado, dentado y elíptico; mide aproximadamente de 1 a 3 cm de largo. El folíolo terminal, generalmente es más grande que los adyacentes. Su inflorescencia es terminal de tipo en racimo, pentámeras; el cáliz es de forma cilíndrica reducido y la corola es tubular de color amarillo por dentro y rojizo por fuera con 4 estambres amarillos. Y el fruto es capsular con semillas aplanadas ⁽¹⁴⁾ ⁽¹⁵⁾.

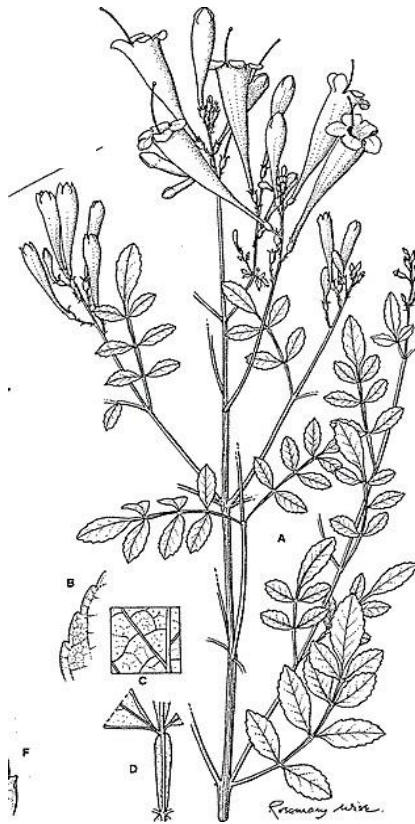


Figura 2. Planta de la especie *Tecoma fulva* (CAV) G.DON. Fuente: (Madera J, 2008) ⁽¹⁵⁾

- **Descripción histológica**

Las hojas del género *Tecoma* mediante un corte transversal presentan, una capa de células esféricas y grandes denominada epidermis con presencia de pelos pluricelular glandulares, su parénquima se encuentra en disposición dorsiventral que en la parte media contiene haces vasculares (floema y xilema) en forma de corona y también presenta un amplio lumen que se sitúa entre el parénquima lagunoso y empalizado ^{(16) (17)}.

- **Hábitat**

Crecen en matorrales, superficies rocosas, quebradas fluviales en condiciones desérticas a 100 – 2800 msnm. Se encuentra distribuido por los países de Chile, Argentina, Bolivia y Perú, en nuestro país lo podemos encontrar en los departamentos de Tacna, Moquegua, Arequipa, Huancavelica, Apurímac, Cuzco, Abancay, Ayacucho e Ica (Pisco, quebradas de Palpa y Nazca y cercado de Ica) ⁽¹⁵⁾.

- **Usos**

Las especies del género *Tecoma*, son usadas en el campo de la medicina para la enfermedad de la diabetes, molestias gastrointestinales a nivel del estómago e hígado y problemas alimenticios como la anorexia, así también en el dolor de diente, afecciones leves en la piel, infecciones respiratorias y del tracto urinario. Así mismo, se han reportado estudios con actividad antioxidante, antifúngica y antibacteriana contra cepas de importancia clínica con resultados favorables demostrando también su uso en esos campos ^{(10) (18)}.

Para la especie en estudio, *Tecoma fulva*, aún no se conoce sus propiedades medicinales ni tradicionales pues no se han realizado investigaciones sobre ellos, sin embargo, la literatura cita que los pobladores la siembran en sus jardines por sus flores coloridas así también para evitar la erosión, como refugio para especies de animales pequeños y como materia para fabricación de flechas ^{(5) (19)}.

- **Composición química**

El género *Tecoma*, mediante estudios realizados con respecto a la identificación de metabolitos, se han notificado la presencia de taninos, saponinas, aceites, carbohidratos, alcaloides, flavonoides, sesquiterpenlactonas, quinonas, triterpenos y esteroides; resaltando que estos son responsables de una actividad antifúngica ^{(12) (20)}.

1.5.2. Morfología vegetal

Estudia la estructura, características y aspectos macroscópicos externos de los órganos de plantas, lo cual servirá como base para establecer las similitudes y diferencias morfológicas que puedan existir dentro de una variedad de géneros o entre familias de plantas ⁽²¹⁾. Esto comprende el estudio de:

- **Raíz:** Es el órgano vegetal que se ramifica y crece bajo el suelo permitiendo la fijación de planta a este, se van a encargar de absorber mediante sus pelos radicales, agua, nutrientes y minerales para conducirlos por medio del xilema a lo largo de toda la planta en forma ascendente hasta las hojas donde se convierten en fotosintatos, que por medio del floema son transportadas nuevamente a la raíz ya que estos productos son necesarios para su desarrollo, y también tiene la función de conservar carbohidratos para respaldar el desarrollo de la planta en los periodos críticos ⁽²²⁾.
- **Tallo:** Es el órgano de forma circular con simetría radial que contiene hojas, flores y frutos, se puede clasificar según su consistencia y ramificaciones. Presenta nudos que es donde se unen a las hojas, el entrenudo que es la distancia entre 2 nudos y las yemas que son prominencia que dan lugar a las hojas y flores. Esta parte de la planta se encarga de sostener y distribuir las hojas según su origen genético, así también, transporta agua, nutrientes y minerales por su floema y xilema a las diferentes partes del vegetal; participan en la fotosíntesis y acumulan sustancias de reserva ⁽²³⁾.
- **Hojas:** Parte de la planta que presenta gran diversidad de formas y colores, lo que permite diferenciarlas unas de otras, su función más importante es la de realizar la fotosíntesis que es un proceso por el cual les permite alimentarse y producir materia orgánica ^{(23) (24)}.
- **Flor:** Este órgano vegetal se considera como un brote, donde las hojas se han modificado para la reproducción. Se encarga de formar las gametas femeninas y masculinas (se establecerán en los granos de polen) para dar paso a la polinización, donde las gametas masculinas son llevadas por los vectores de los granos de polen hasta el estigma de otra flor de su misma especie vegetal llegando hasta el saco embrionario y produciéndose una fecundación doble, en caso del óvulo, evoluciona y se transforma en semilla y el ovario en el fruto. Sus partes

morfológicas son el cáliz, corola, gineceo y androceo, clasificados según características individuales ⁽²³⁾ ⁽²⁴⁾.

- **Fruto:** Es el órgano vegetal proveniente de la flor que alberga a las semillas que al madurar ayudan a dispersarlas. Se clasifican según su consistencia, procedencia y si se abren o no ⁽²⁴⁾.
- **Semillas:** Parte esencial para la supervivencia de las plantas en condiciones críticas ⁽²⁴⁾.

1.5.3. Histología vegetal

Es una ciencia que forma parte de la Biología, se encarga de estudiar la estructura, características y composición de los tejidos de las plantas, estos son una organización de células que tienen origen durante el desarrollo del cigoto vegetal luego de la fecundación y que difieren una de otra especie vegetal ⁽²⁵⁾ ⁽²⁶⁾. Generalmente los tejidos vegetales se clasifican en:

1.5.3.1. Tejidos meristemáticos

Está compuesto por células que constantemente se están dividiendo dando origen a nuevos tejidos y células. ⁽²⁶⁾.

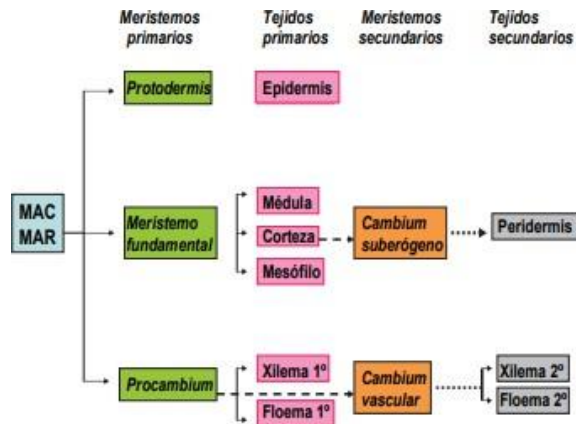


Figura 3. Origen de los tejidos primarios y secundarios a partir del meristemo apical caulinar y meristemo apical radical. Fuente: (Satamarian P, Roselló J, 2018) ⁽²⁶⁾

1.5.3.2. Tejidos adultos

Contiene células que a diferencia de los meristemáticos estos ya no tienen la capacidad de seguir dividiéndose, se clasifican según su función y estructura, en:

- **Protección**

Encontramos los siguientes tejidos:

- ❖ **Epidermis:** Tejido que deriva del meristema primario, es la primera capa que va a revestir a todos los órganos de las plantas, la parte externa está envuelta por la cutícula que a su vez contiene cutina que casi no permite el paso de agua y gases, lo que le permite limitar el intercambio gaseoso gracias a los estomas que presenta y proteger a la planta mediante sus pelos o tricomas ⁽²⁷⁾ ⁽²⁸⁾.
- ❖ **Peridermis:** Se origina en las plantas con tallo de crecimiento secundario, es una capa que es impermeable al intercambio de gases entre los tejidos externos de la raíz y tallo con el aire ⁽²⁸⁾.

- **Fundamental**

- ❖ **Parénquima:** Está conformada por células vivas en forma poliédrica, presenta una delgada pared celular con una mínima cantidad de 1 a 2 grandes vacuolas que contienen un medio acuoso con sustancias de desecho disueltas ⁽²⁵⁾. Se describe 4 tipos de parénquima:
 - **El parénquima clorofílico:** Tiene células con abundante cloroplasto, generalmente se encuentran en todas las hojas por debajo de la epidermis en forma alargadas que recibe el nombre de parénquima en empalizada y debajo de ello, se presentan las células en forma de pequeñas lagunas con espacios entre ellas denominado parénquima lagunar o esponjoso, el primero tiene lugar a la fotosíntesis y el segundo facilita el intercambio de gases y agua con el exterior ⁽²⁵⁾ ⁽²⁸⁾.
 - **Parénquima aerífero:** Se encuentran en las hojas de plantas acuáticas.

- Parénquima de Reserva: Sus células presentan entre ellas pequeños espacios que le permite almacenar agua, nutrientes y sales minerales ⁽²⁸⁾.
- Parénquima Acuífero: Sus células son delgadas y ricas en mucílagos que les permite almacenar agua y de esta manera tener reserva para su desarrollo ⁽²⁸⁾.
- ❖ Colénquima: Presenta células alargadas con paredes celulares primarias de gran engrosamiento que contiene hemicelulosa, pectina y celulosa que la hace flexible y resistente capaz de servir como sostén a los órganos vegetales ^{(26) (27)}.
- ❖ Esclerenquímica: Posee células que a diferencia de las colenquimáticas estas están muertas y presentan pared celular gruesa secundaria, duras y contienen lignina que le confiere la capacidad de proteger y otorgar resistencia mecánica a las plantas ^{(26) (27)}.
- **Vascular:** A partir de la zona meristemática, mediante una serie de divisiones se origina una célula llamada procambium que a su vez generan el xilema y floema, en caso de las plantas que tienen un crecimiento secundario se origina una célula llamada cambium vascular que dará origen al floema y xilema secundario ⁽²⁷⁾.
- ❖ Xilema: También llamado leño, es un tejido compuesto de lignina que se encarga de llevar agua y sales minerales por toda la planta a través de sus células conductoras como las células parenquimáticas que cumplen la función de reserva de sustancias y establece comunicación entre el xilema y floema; y las fibras de esclerenquima y esclereidas que cumplen su función de sostén ^{(27) (28)}.
- ❖ Floema: También llamado líber, es un tejido que tiene la función de transportar sustancias que han sido elaborado en la fotosíntesis, lo conduce hasta los órganos que siguen en crecimiento y generando nuevas células y tejidos ^{(27) (28)}.

1.5.4. Evaluación fitoquímica

Es un estudio que se realiza con la finalidad de encontrar compuestos con actividad biológica en una planta. Todo empieza desde los extractos vegetales que permiten extraer una variedad de metabolitos secundarios utilizando diferentes solventes, ya sea por el método de maceración, soxhlet, lixiviación, ultrasonificación o por arrastre de vapor. La evaluación fitoquímica permitirá identificar cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en extractos de flores, tallos, frutos, hojas, semillas o raíces mediante reacciones de coloración y precipitación ⁽²⁹⁾.

1.5.5. Metabolitos

El metabolismo abarca una serie de reacciones químicas que se llevan a cabo con la finalidad de formar sustancias complejas a partir de unas más simples o viceversa ⁽³¹⁾. Las plantas realizan un metabolismo primario y secundario originándose en cada uno de ellos, diferentes productos que se clasifican en:

- Metabolitos Primarios: Estos se forman por la interacción de la energía con la mayor parte de carbono y nitrógeno asimilado, son sustancias vitales para el buen funcionamiento de las plantas, dentro de los cuales se encuentran: Los aminoácidos, nucleótidos, azúcares y lípidos ⁽³⁰⁾.
- Metabolitos Secundarios: Se originan por la interacción de la energía y de una menor parte del carbono asimilado, son compuestos que no participan en el funcionamiento de la planta, algunos de ellos actúan atrayendo animales, como pigmentos, de defensa frente a predadores ya que actúan como repelente o confiriéndoles un sabor amargo, también participan como pesticidas naturales protegiendo a las plantas de enfermedades ⁽³⁰⁾. Estos se clasifican en 4 principales grupos:

Terpenos: Pigmentos, hormonas o aceites esenciales.

Compuestos fenólicos: Taninos, flavonoides, cumarinas y lignina.

Glicósidos: Saponinas, glicósidos cianogénicos, glicósidos glucosinolatos y glicósidos cardíacos.

Alcaloides ⁽³⁰⁾.

1.5.6. *Fusarium sp.*

El género cosmopolita *Fusarium*, es un gran grupo de hongos aerobios que crecen en forma de filamento, está categorizado en la familia *Nectriaceae*, es un moho que está grandemente distribuido en todos los suelos asociado a plantas de todo el mundo, este tipo de fitopatógenos sobreviven alimentándose de materia orgánica en descomposición, suele invadir parte del suelo cerca a la raíz de las plantas afectando así el desarrollo de una gran cantidad de cultivos con importancia económica y agrícola ⁽³¹⁾.

- **Hospedante:**

Fusarium sp. causa enfermedades en varias plantas de cultivos de: Apio, cebolla, tomate, plátano, pepino, sandía, melón, espinaca, espárrago, vid, alverja, lenteja, albahaca, alfalfa ^{(32) (33)}.

- **Morfología:**

Cuando *Fusarium sp.* cumple con su periodo de crecimiento en PDA (papa – dextrosa – agar), se puede observar una colonia micelial que tiene un color naranja claro, violeta, azul pálido y en su mayoría de color blanco. Bajo observación microscópica se puede encontrar 3 tipos de esporas: Las microconidias que son unicelulares, incoloras, no presentan septos y son de forma elípticas. Las macroconidias a diferencia de las anteriores, presentas de 1 a 4 septos horizontales, tienen varias células con pared delgada y son ligeramente curvados que toma la forma de una media luna. Las clamidosporas son formadas a partir del engrosamiento y unión de las macroconidias o células de las hifas, tienen paredes gruesas lo que le confiere resistencia y gran duración para permanecer varios años en el suelo así sea en condiciones ambientales críticas ⁽³³⁾.

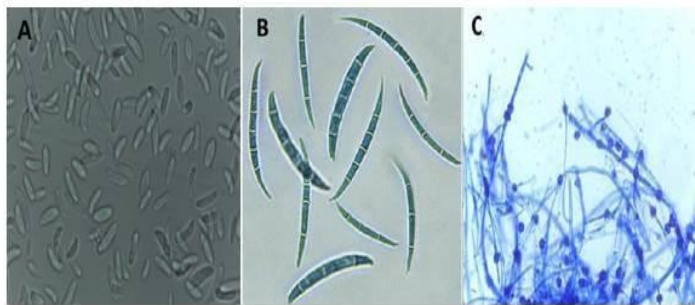


Figura 4. Morfología de *Fusarium oxysporum* f. A. Microconidias. b. Macroconidias. C. Clamidosporas. Fuente: (Cardina L, 2019) ⁽³⁴⁾

- **Ciclo de la enfermedad**

El hongo *Fusarium sp.* sobrevive y está presente por mucho tiempo en el suelo y residuos infectados de las plantas. Cuando la temperatura y humedad son adecuadas para su desarrollo, se producen las esporas y clamidosporas que se dispersan por medio del agua y aire. Cuando las clamidosporas perciben exudados generados por la planta que generalmente presentan heridas o cortes en la superficie de la raíz, empiezan a germinar y las hifas comienzan a colonizar penetrando la raíz hasta llegar al xilema donde la enfermedad sigue su curso, se comienzan a formar nuevas esporas (macroconidias y microconidias) que se desplazan con la corriente de agua llegando a muchas células vasculares produciéndose más microconidias, que producen una serie de enzimas que junto con la secreción que produce la planta como mecanismo de defensa frente a este patógeno (goma), producen un taponamiento del xilema lo que ocasiona una reducción significativa del flujo de agua y nutrientes, generando finalmente un marchitamiento vascular ⁽³⁵⁾.

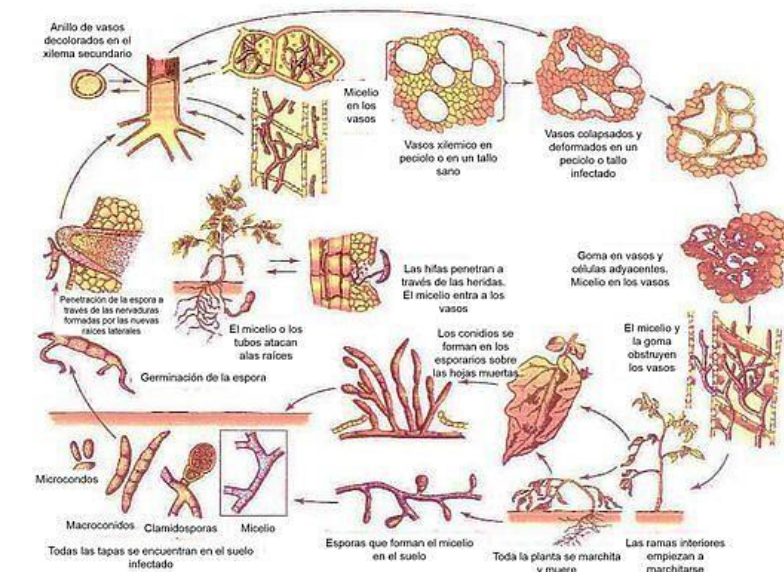


Figura 5. Ciclo de la enfermedad de *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*. Fuente: (Agrios, 2005) ⁽³⁶⁾

- **Sintomatología:**

Además del marchitamiento vascular característico en una planta infectada por *Fusarium sp.*, se puede observar en el inicio de la infección que parte de la hoja se va deformando y tornándose de color amarillento que con el avance de la enfermedad se vuelve amarilla por completo; los brotes van disminuyendo, en algunos casos suelen crecer, pero lo hacen de forma anormal y se empiezan a doblar a la planta infectada; sus raíces se empiezan a pudrir tomando un color marrón y empapadas de agua. En la observación microscópica se puede observar los haces vasculares de color blanquecino, marrón o amarillo. Los síntomas de esta enfermedad van afectando la planta de forma ascendente causando un marchitamiento además de una necrosis total de la planta y, por consiguiente, su muerte ⁽³⁴⁾ ⁽³⁵⁾.

- **Condiciones favorables de proliferación**

La temperatura óptima en la cual se desarrolla *Fusarium sp.* es de 25 a 30°C, con una temperatura mínima de 5°C y 37°C como máximo, la formación de esporas se da a una temperatura de 20 a 25°C con medio día de iluminación y oscuridad. El pH adecuado para su desarrollo es de 7.7, aunque puede crecer entre 2.2 y 9.0. Los suelos arenosos con bajo nivel de nitrógeno y alto en potasio son los que favorecen su crecimiento ⁽³⁷⁾ ⁽³⁸⁾.

II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

2.1. Tipo, nivel y diseño de la investigación ⁽³⁹⁾

2.1.1. Tipo de investigación

Básica, ya que se pretende incrementar la información disponible sobre las propiedades de la planta en estudio para posteriores investigaciones.

2.1.2. Nivel de investigación

Descriptivo, ya que se especificará las características, propiedades, situación y actitudes de las variables en estudio, lo que nos permitirá tener una idea más clara de lo que está sucediendo.

Explicativo, ya que busca el porqué de los hechos. En este trabajo de investigación de establecerá una posible relación entre los metabolitos encontrados en el tamizaje fotoquímico y la actividad antifúngica.

2.1.3. Diseño de la investigación

Experimental, debido a que manipularemos, controlaremos o aleatorizaremos las variables con la finalidad de establecer su efecto entre ellas.

2.2. Lugar de investigación

- ❖ Laboratorio de Química Farmacéutica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad “San Luis Gonzaga”.
- ❖ Laboratorio de Análisis Bioquímicos y Clínicos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad “San Luis Gonzaga”.
- ❖ Laboratorio del Instituto de Investigación de la Universidad “San Luis Gonzaga”.

2.3. Materiales

2.3.1. Material vegetal

- Hojas, raíces y flores de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON

2.3.2. Material biológico

- Cepa de *Fusarium sp.*

2.3.3. Medio de cultivo

- Papa Dextrosa Agar (PDA)

2.3.4. Materiales de laboratorio

- Tubos de ensayos
- Vaso de precipitados

- Matraces
- Gradillas
- Placas excavadas
- Soporte Universal
- Aro de Soporte
- Varillas de vidrio
- Cocinillas eléctricas
- Mecheros
- Espátulas de metal
- Láminas portaobjetos
- Cubreobjetos
- Cámara de Neubauer
- Placas de Petri
- Embudos de vidrio
- Baguetas
- Luna de reloj
- Asa Bacteriológica
- Micropipetas de 1000 μL y 200 μL
- Tips para micropipetas
- Propipetas
- Peras de Bromo
- Pipetas de 5 ml y 10 mL
- Placas multipozos
- Probetas
- Fiola

2.3.5. Equipos de laboratorio

- Autoclave/ Marca: Remy
- Estufa esterilizadora/ Marca: Binder
- Microscopio
- Balanza analítica/ Marca: Boeco
- Refrigeradora
- Incubadora/ Marca: Digisystem
- Cabina de Seguridad Biológica/ Marca: Esco

2.3.6. Reactivos y disolvente

- Fungicida químico: Benzomil® 500
- Etanol 96°
- Agua destilada
- Diclorometano
- Ácido clorhídrico 1%
- Hidróxido de amonio
- Acetato cúprico
- Azul de metileno
- Clorioduro de zinc
- Reactivo de lugol
- Reactivo de sudan
- Ácido clorhídrico cc
- Limaduras de Magnesio
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Dragendorff
- Cloruro de Sodio 5%
- Gelatina 1%
- Cloruro férrico 1%
- Ninhidrina 2%
- Ácido sulfúrico cc
- Hidróxido de sodio 5%
- Hidróxido de potasio 5,7%
- Ácido 3,5-dinitrobenzoico 2%
- Metanol
- Alcohol amílico
- Agua estéril

2.3.7. Otros

- Bolsa de papel kraft
- Papel kraft
- Tijeras
- Ligas
- EPP (mandil, guantes quirúrgicos, mascarillas y gorros quirúrgicos)

- Papel de filtro
- Papel tornasol
- Viales
- Algodón
- Pinceles
- Gillette
- Papel toalla
- Regla
- Envases de vidrio

2.4. Hipótesis y Variables

2.4.1. Hipótesis

a) Hipótesis general:

El extracto etanólico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON presenta actividad antifúngica *in vitro* frente a *Fusarium sp.* se identificó los metabolitos secundarios y se realizó el estudio morfo-histológico de la especie *Tecoma fulva* (CAV) G.DON.

b) Hipótesis específicas:

- Se ha identificado los metabolitos secundarios presentes en la evaluación fitoquímica del extracto etanólico crudo (fracción a) y de sus fracciones derivadas de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON.
- La especie *Tecoma fulva* (CAV) G.DON posee características morfo-histológicas que permite su correcta identificación.
- El extracto etanólico crudo (fracción a) y sus fracciones derivadas de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON presentan actividad antifúngica *in vitro* frente a *Fusarium sp.*
- Se ha determinado la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico crudo (fracción a) y de sus fracciones derivadas de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON en la evaluación de la actividad antifúngica *in vitro* frente a *Fusarium sp.*
- El extracto etanólico crudo (fracción a) y sus fracciones derivadas de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON presentan inhibición de formación de conidias en la evaluación con *Fusarium sp.*

2.4.2. Variables de la investigación:

a) Variables dependientes

Evaluación fitoquímica.

Actividad antifúngica *in vitro* frente a *Fusarium sp.*

Estudio morfológico de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON.

Estudio histológico de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON.

b) Variables independientes

Extracto etanólico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON.

Fracciones derivadas del extracto etanólico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON.

Planta entera de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON.

2.5. Población y muestra

a) Población: Hojas de la especie *Tecoma fulva* (CAV) G.DON y cepa de *Fusarium sp.*

b) Muestra: Extracto etanólico obtenido a partir de 1100 g de hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON.

2.6. Métodos técnicos y procedimientos de recolección de datos

2.6.1. Recolección y tratamiento de la muestra

a) Recolección de la muestra vegetal

La especie *Tecoma fulva* (CAV) G.DON, fue recolectada por la autora en los meses de abril y mayo en el centro poblado de Molletambo, en el distrito de Yauca del Rosario, perteneciente a la provincia y departamento de Ica, entre los 295° NW y a los 1258.2 m de altitud. La recolección se llevó a cabo en las primeras horas de la mañana evitando la exposición de la planta al sol, para ello se utilizó tijeras y bolsas de papel kraft. En total se recolectó una cantidad 3 sacos de hojas que posteriormente fueron trasladadas al laboratorio de Química Farmacéutica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional “San Luis Gonzaga”.

Una parte de la planta entera fue reservada para su clasificación taxonómica en la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSLG por el Dr. Miranda Huamán David (Anexo N°1).



Figura 6. Lugar de recolección (Molletambo – Ica)

b) Tratamiento de la muestra vegetal ⁽⁴⁰⁾ ⁽⁴¹⁾ (ANEXO N°2)

- **Selección:** En primer lugar, se procedió a seleccionar las hojas que estaban en óptimas condiciones; aquellas que no eran propia de la especie, que presentaban algún daño en su textura, decoloradas u hojas que presentaban mohos, se desecharon.
- **Limpieza:** Se continuó limpiando el exceso de polvo de las hojas usando trapitos y agua destilada, así mismo, se retiró materias extrañas como tierra o pequeñas piedras que pudieran interferir posteriormente en la rendición del extracto.
- **Secado:** En láminas de papel kraft, se pusieron a secar las hojas a temperatura ambiente en lugar seco y cerrado protegido de insectos y aves. El secado se llevó a cabo en 7 días volteando las hojas frecuentemente para un mejor secado uniforme.
- **Trituración:** Las hojas fueron trituradas manualmente usando tijeras hasta un tamaño adecuado con la finalidad de aumentar el contacto con el solvente y haya una mejor extracción de metabolitos.
- **Conservación:** Las hojas ya trituradas fueron almacenadas en envases de vidrio para su posterior maceración. Se obtuvo 1100 g de hojas trituradas.

2.6.2. Evaluación fitoquímica:

a) Obtención del extracto etanólico ⁽⁴²⁾⁽⁴³⁾ (ANEXO N°3)

Los 1100 g de hojas secas y trituradas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON, se maceraron en frascos de vidrio con etanol de 96° durante 7 días con agitación diaria, se filtró y se renovó el solvente dejándolo por 7 días más.

Pasado los días de maceración, el marco resultante se llevó a reflujo con etanol de 96° durante periodos de 4 horas, terminado ese tiempo, ambos extractos (macerado – reflujo) se juntaron y se dejaron secar a temperatura ambiente obteniéndose una cantidad de 235 g de extracto total etanólico seco.

b) Obtención de fracciones ⁽⁴⁴⁾ (ANEXO N°3)

Para ello se utilizó como guía el método propuesto por la Dra. Olga Lock de Ugaz. Cabe mencionar que se realizaron algunas modificaciones dependiendo del comportamiento del extracto.

Se separó 20 g del extracto etanólico seco total, lo que constituyó la **Fracción A**. El extracto seco restante se disolvió con 300 ml de HCl al 1%, se filtró y se obtuvo dos partes:

A. Insoluble: Los residuos que quedaron en el papel de filtro se llevaron a secar, una vez pasado el tiempo de secado, se lavó con agua destilada hasta obtener un pH neutro que fue medido con un papel de tornasol, los papeles de filtro con los residuos fueron nuevamente puestos a secar para finalmente disolverlos en 1 litro de diclorometano, esto constituyó la **Fracción B**

B. Solución ácida: El líquido ácido obtenido luego del filtrado, se alcalinizó con 17 mL de amoníaco hasta obtener un pH alcalino, la solución se pasó a una pera de bromo y se empezó a extraer con diclorometano (2 litros) obteniéndose dos fases:

B.1. Fase orgánica (Diclorometánica): Se filtró y constituyó la **Fracción C**.

B.2. Fase acuosa: Se empezó a extraer con diclorometano (3 litros): etanol (2 litros) en una relación de (3:2). Se obtuvo 2 fases:

B.2.1. Fase orgánica (Diclorometánica – etanólica): Se filtró y constituyó la **Fracción D**.

B.2.2. Fase acuosa remanente: Se puso a secar y constituyó la **Fracción E**.

c) Detección de metabolitos secundarios y grupos funcionales (ANEXO N°4)

Una vez que se obtuvieron las fracciones A, B, C, D y E del extracto etanólico seco total, se procedió a realizar reacciones de precipitación y coloración para poder identificar que metabolitos secundarios y grupos funcionales se encuentran en cada una de ellas.

- **Detección de taninos en la fracción A: Reacción de gelatina – sal**

Una mínima cantidad del extracto seco de la fracción A, se disolvió en agua y se depositó 1 mL de la disolución en cada uno de los tres tubos de ensayos, al primer tubo se le adicionó 2 mL de solución de NaCl 5%, al segundo, 2 mL de solución de gelatina 1% y al tercero se le adicionó 1 mL de solución de gelatina 1% y 1 ml de NaCl 5%, la precipitación con este último reactivo o con ambos el 1° y el 2° indica la presencia de taninos, pero si solamente ocurre precipitación con el 1° tubo, podría ser un falso positivo.

- **Detección de grupos fenólicos libres en la fracción A: Reacción de tricloruro férrico**

Una pequeña cantidad del extracto seco de la fracción A, se disolvió en etanol y se depositó 1 mL en un tubo de ensayo, se le agregó dos gotas de FeCl₃ 1%. Si se observa la aparición de colores azul – negro, verde o azul verdoso, indica que la reacción es positiva.

- **Detección de aminoácidos (grupos aminos libres) en la fracción A: Reacción de ninhidrina**

Se disolvió una pequeña cantidad del extracto seco de la fracción A en etanol, y sobre dos tiras de papel de filtro se colocaron:

A. Muestra: Una gota de la disolución + una gota del reactivo de Ninhidrina 2%

B. Blanco: Solución etanólica de ninhidrina 2%

Las 2 tiras de papel de filtro se pusieron a secar a temperatura ambiente para luego colocarlos en la estufa a 110 – 120 °C hasta observar la aparición de un color azul violácea en el blanco, que se comparó con el color de la muestra. Si tienen la misma coloración, la reacción era positiva.

- **Detección de flavonoides en las fracciones A, D y E: Reacción de Shinoda**

Una pequeña cantidad de los extractos secos de las fracciones A, D y E, se disolvieron en etanol. En 3 placas excavadas se echaron 0.5 mL de cada disolución, se adicionaron 5 limaduras de magnesio y 2 a 3 gotas de HCl concentrando.

La reacción será positiva cuando aparecen tonos de colores rojo, anaranjado y violeta.

- **Detección de antraquinonas en la fracción B: Reacción de Bornträger**

En un tubo de ensayo, se disolvió una pequeña cantidad del extracto en diclorometano, se agregaron 3 ml de NaOH 5% y se empezó agitar suavemente.

Si la fase acuosa se torna de un color rojo, la reacción es positiva.

- **Detección de triterpenoides y/o esteroides en las fracciones B, C y D: Reacción de Liebermann Burchard**

En 3 placas excavadas se disolvió una pequeña cantidad de los extractos secos de las fracciones B, C y D en diclorometano, se añadieron 4 gotas de anhídrido acético y 4 gotas de H₂SO₄ concentrado.

La reacción será positiva si se observa la aparición de colores verde, azul verdoso (vías rojas o azul).

- **Detección de cardenólidos en la fracción C y D: Reacción de Kedde**

Se tiene dos soluciones:

Solución a: ácido 3,5-dinitrobenzoico 2% en metanol

Solución b: Hidróxido de potasio 5,7% en agua

Ambas soluciones son mezcladas a volúmenes iguales que constituyó el reactivo **(R)**.

En un tubo de ensayo, colocamos una pequeña cantidad del extracto seco de las fracciones y la disolvimos en metanol para luego añadirle 2 a 3 gotas del reactivo **(R)**.

La reacción será positiva si se forma un color púrpura violáceo.

- **Detección de alcaloides en las fracciones C y D**

En tubos de ensayos, los extractos secos de las fracciones fueron disueltos por separado en HCl 1% y luego filtrados. En cada tubo se añadió 2 a 3 gotas de los reactivos de Mayer, Dragendorff y Wagner.

Las reacciones serán positivas si se observa:

Dragendorff: Precipitado anaranjado

Mayer: Precipitado blanco cremoso

Wagner: precipitado marrón

- **Detección de leucoantocianidinas y catequinas en las fracciones C y D:**

Reacción de Rosenheim

A 1ml de las fracciones, se agregó 0,5 mL de HCl concentrado, lo llevamos a baño maría durante 10 min. Dejamos enfriar y agregamos 2 mL de agua destilada y 1 mL de alcohol amílico, agitamos y observamos el color que toma la fase amfílica.

Si se torna de un color rojo indica la presencia de leucoantocianidinas. Si se torna de un color marrón indica la presencia de catequinas.

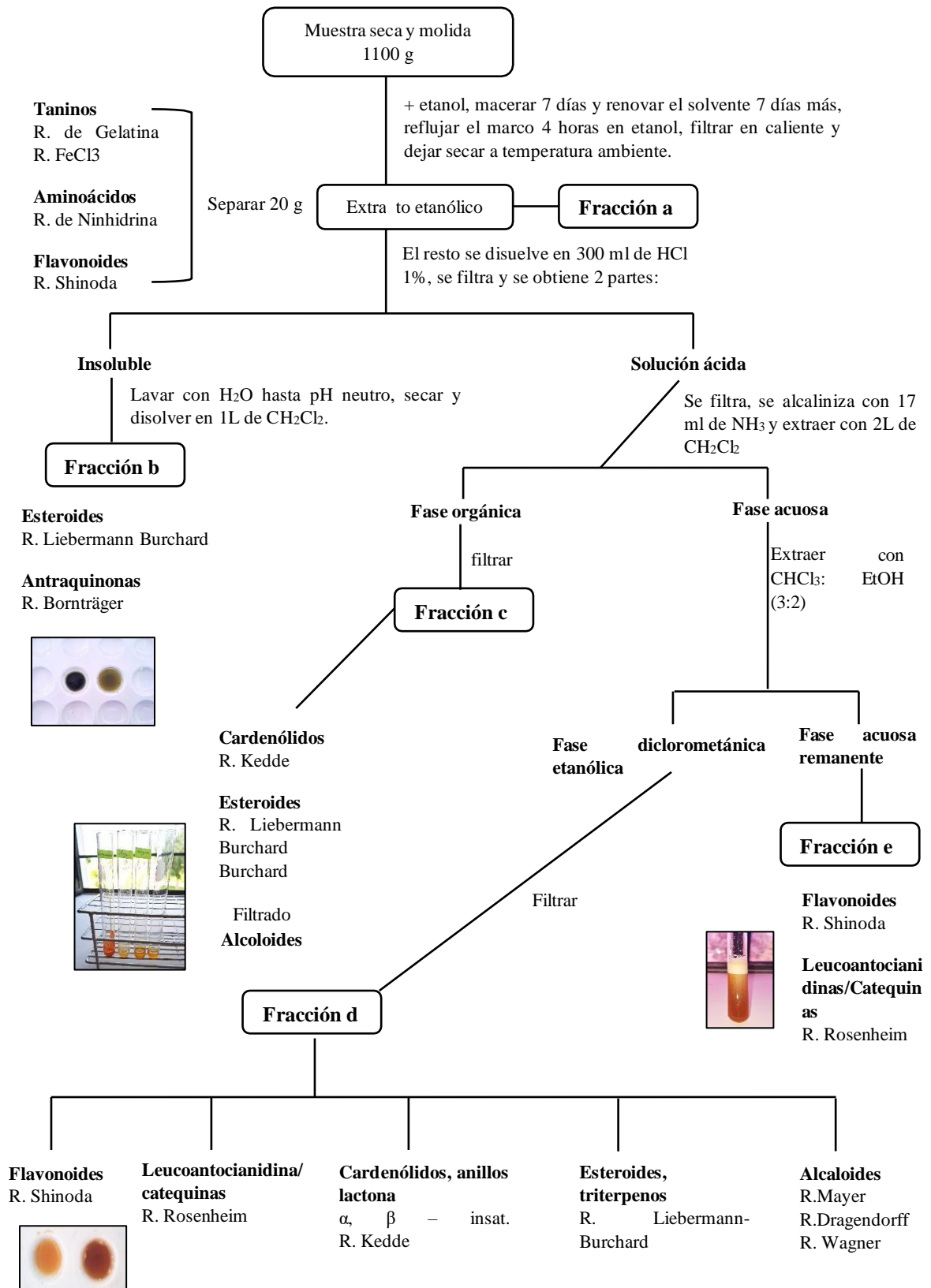


Figura 7. Flujoograma del Screening Fitoquímico de *Tecoma fulva* (CAV) G. DON.

2.6.3. Estudio morfológico de *Tecoma fulva* (CAV) G. DON ⁽⁴⁵⁾ (ANEXO N° 5)

La caracterización de la especie vegetal se describió en el siguiente orden: planta completa (tipo y altura); tipo de raíz; características del tallo (consistencia, presencia de nudos, entrenudos y ramas); características de la hoja (tamaño longitudinal, números de foliolos, forma del peciolo, tipo de nervadura, disposición, tipo de borde y color); características de la flor (tipo de inflorescencia, presencia de pedúnculo y posición), cáliz (soldadura, número y color de sus sépalos), corola (soldadura, número, medida longitudinal y color de sus pétalos), androceo (número de estambres y tecas), gineceo (disposición); características del fruto (forma, expulsión de semillas y medida longitudinal) y semilla (forma).

2.6.4. Estudio histológico de *Tecoma fulva* (CAV) G. DON ⁽⁴⁶⁾ (ANEXO N°5)

Para analizar la histología de la planta vegetal, se utilizaron hojas de afeitar nuevas y láminas de portaobjetos, sobre ellas se realizaron cortes histológicos transversales a mano alzada de las hojas y raíces, los cortes más delgados fueron conservados en una placa de Petri con agua destilada para luego realizar una tinción sucesiva doble, que consistió en teñir los cortes primero pasándolo por el colorante rojo congo y luego por el colorante verde brillante para finalmente ser enjuagados con agua destilada. Con ayuda de un pincel, colocamos los cortes histológicos teñidos en una lámina y lo montamos al microscopio para observarlo con los objetivos de 40X y 100X.

Pruebas histoquímicas: Son un conjunto de ensayos muy importantes que se realizan con la finalidad de poder identificar y localizar compuestos químicos en los tejidos de las plantas, así también, nos permitió establecer una comparación con los resultados obtenidos en el screening fitoquímico. (ANEXO N°5).

Se realizaron las siguientes pruebas en las hojas, flores y raíces:

- **Detección de alcaloides – Reactivo de Dragendorff:** Se colocaron los cortes histológicos a mano alzada sobre una lámina portaobjeto, agregamos una gota de reactivo sobre ellos y se dejó actuar por unos minutos, se montó en el microscopio y se observó la variación de color de los tejidos. Los alcaloides en los tejidos se presentan de un precipitado rojo ladrillo.

- **Detección de taninos - cloruro férrico:** Se colocaron los cortes histológicos a mano alzada sobre una lámina portaobjeto, le agregamos sobre ellos una gota del reactivo cloruro férrico se dejó actuar de 2 a 3 minutos y se lavó con agua destilada, se montó en el microscopio y se observó la variación de color de los tejidos. Los grupos fenólicos libres en los tejidos se colorean azul – verdoso.
- **Detección de almidón - Reactivo de lugol:** Se colocaron los cortes histológicos a mano alzada sobre una lámina portaobjeto y le agregamos una gota de lugol sobre ellos, se montó en el microscopio y se observó la variación de color de los tejidos. El almidón se colorea de un color azul o azul – violáceo.
- **Detección de saponinas – Ácido sulfúrico concentrado:** Se colocaron los cortes histológicos a mano alzada sobre una lámina portaobjeto, le agregamos una gota del reactivo, se montó en el microscopio y se observó la variación de color de los tejidos. Las saponinas inicialmente toman un color amarillo, a la media hora cambia a rojo y finalmente a un color violeta o azul – verdoso.
- **Detección de oxalato de calcio – Reactivo de ácido cúprico:** Se colocaron los cortes histológicos a mano alzada sobre una lámina portaobjeto y le agregamos una gota del reactivo sobre ellos, se montó en el microscopio y se observó la variación de color de los tejidos. La presencia de un color azul indica la presencia de oxalatos de calcio.
- **Detección de mucílagos – Azul de cresil al 1%**
Se colocaron los cortes histológicos a mano alzada sobre una lámina portaobjeto y le agregamos una gota del reactivo sobre ellos, se montó en el microscopio y se observó la variación de color de los tejidos. Los mucílagos se colorean de un color azul Francia.
- **Detección de grasas y aceites – Reactivo de sudán IV**
Se colocaron los cortes histológicos a mano alzada sobre una lámina portaobjeto y le agregamos una gota del reactivo sobre ellos, lo dejamos actuar por 10 min y lavamos con alcohol. La lámina se montó en el microscopio y se observó la variación de color de los tejidos. Las grasas y aceites se colorean de un color rojo.
- **Detección de celulosa – Prueba de clorioduro de zinc:** Se colocaron los cortes histológicos a mano alzada sobre una lámina portaobjeto y le agregamos una gota

del reactivo sobre ellos, se montó en el microscopio y se observó la variación de color de los tejidos. La celulosa toma un color azul o violeta y las paredes lignificadas se tiñen de amarillo.

2.6.5. Actividad antifúngica

2.6.5.1. Materiales y procesos previos a los ensayos de evaluación (Anexo N°6):

a) Obtención de cepas

Para este estudio, las cepas de *Fusarium sp.* fueron donados por el laboratorio Rizoagrum S.A.C. de la ciudad de Ica.

b) Preparación del medio de cultivo ⁽⁴⁷⁾

Los materiales de vidrio necesarios para la preparación fueron envueltos en papel kraft y esterilizados a calor seco en la estufa a una temperatura de 180°C durante 60 minutos, luego se calculó la cantidad de medio de cultivo PDA (Papa – Agar – Dextrosa) a utilizar para todos los ensayos (se tomó como referencia las indicaciones del fabricante), en un matraz, el medio de cultivo fue disuelto en agua destilada y llevado a ebullición hasta su total disolución. Finalmente, el PDA preparado se llevó a esterilizar a calor húmedo en la autoclave a una presión de 15 lb durante 30 minutos y una vez salido se mantuvo a una temperatura de 40°C para evitar su solidificación.

c) Replicación de las cepas madres ^{(48) (49)}

Para ello, se depositaron 20 mL de PDA en placas de Petri y se dejaron enfriar, luego con ayuda de un asa bacteriológica esterilizada expuesta previamente al mechero, en el centro de la placa se inoculó un disco de micelio del hongo de 6 mm y se dejó incubando por 15 días controlando una temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

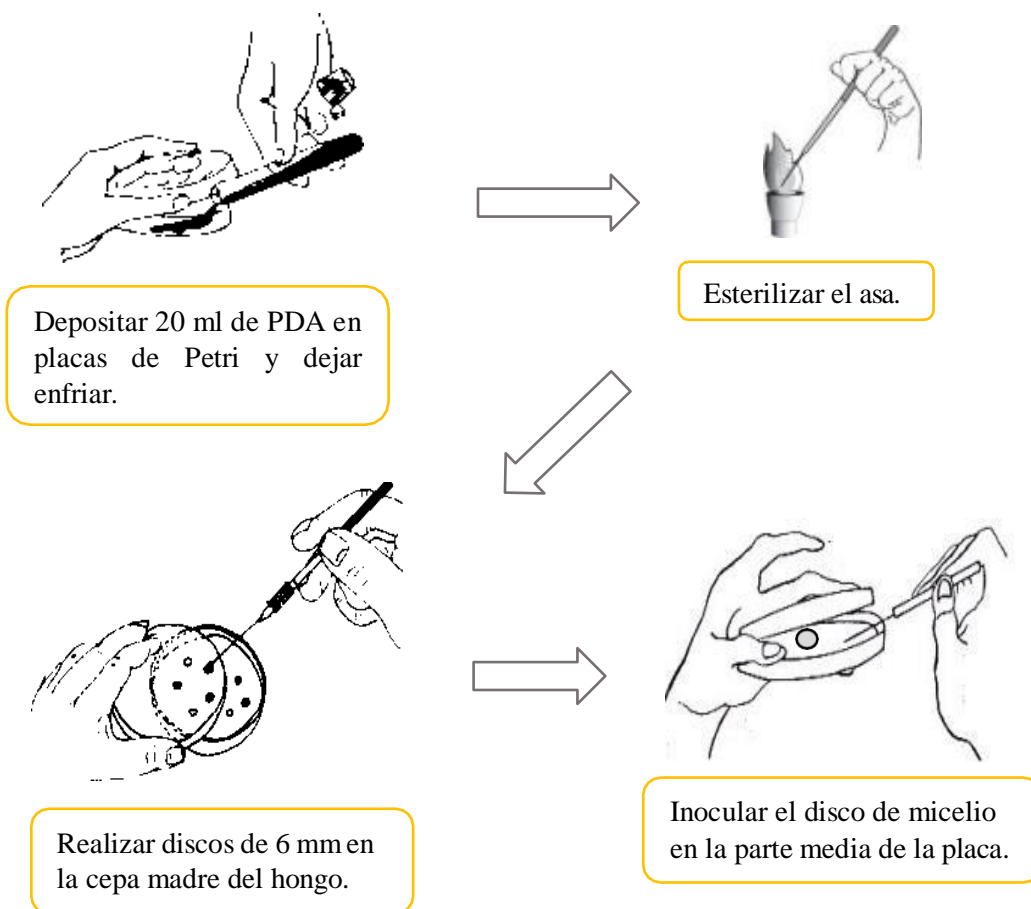


Figura 8. Flujograma de la replicación de cepa madre a cepas fúngicas de *Fusarium sp.*

2.6.5.2. Evaluación de la actividad antifúngica

Todas las evaluaciones se realizaron con la técnica de “Medio envenenado” que consiste en añadir al medio de cultivo (PDA) previamente esterilizado, una cantidad de la disolución de los extractos dependiendo de las concentraciones a evaluar ⁽⁵⁰⁾.

a) Evaluación cualitativa ⁽⁵¹⁾ (ANEXO N°7)

Esterilización de materiales: En primer lugar, se puso a esterilizar placas de Petri y viales en la estufa, por otro lado, en la autoclave se esterilizó el medio de cultivo, agua destilada en tubos de ensayo y tips para micropipetas de 1000 μL y 200 μL . Este tipo de evaluación se realizó en placas multipozos (12 pozos) que previamente se sometieron

a una esterilización ultravioleta y fueron rotulados según las muestras. Todos los materiales fueron llevados a la cabina de flujo esterilizada con luz UV germicida.

Preparación de extractos: Los extractos se evaluaron a una concentración de 3% (600 μ L) en relación a la cantidad de PDA utilizado (10 ml) por cada muestra. Para ello, en 5 viales se pesó 1 gramo de cada uno de los extractos de las fracciones (a, b, c, d y e) y se disolvió en 1 ml de etanol.

Técnica de medio envenenado: En una placa de Petri y con una micropipeta de 1000 μ L, se depositó 600 μ L de la disolución del extracto, seguidamente, con una jeringa se añadió 10 ml de medio de cultivo y se homogenizó ligeramente. Rápidamente con la misma micropipeta se tomó 1000 μ L del homogenizado y se dispensó en un pozo, se realizaron 5 repeticiones por cada extracto de cada fracción más 1 control positivo y negativo.

Control positivo: PDA + fungicida comercial Benzomil® 500 (0.1%)

Control negativo: PDA

Las placas multipozos se dejaron enfriar para que el PDA se solidifique y realizar la inoculación.

Inoculación: Se tomó un asa bacteriológica esterilizada previamente con la flama del mechero y se procedió hacer un raspado sobre la cepa fúngica de *Fusarium sp.* para remover sus conidias, estas fueron depositadas en un tubo de ensayo con agua estéril, se agitó y se puso una pequeña muestra en la cámara de Neubauer para el conteo, así se obtuvo una suspensión de $1,26 \times 10^6$ conidias/ml, con ayuda de una micropipeta de 200 μ L se tomó 45 μ L de la suspensión y se dispensó en los 5 pozos por cada muestra. Finalmente, las placas fueron selladas con parafilm e incubadas durante 5 días controlando una temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

Interpretación de resultados: Pasado los días de incubación, se observó en las muestras ensayadas si hubo una inhibición total, media, baja o nula del crecimiento micelial de *Fusarium sp.*

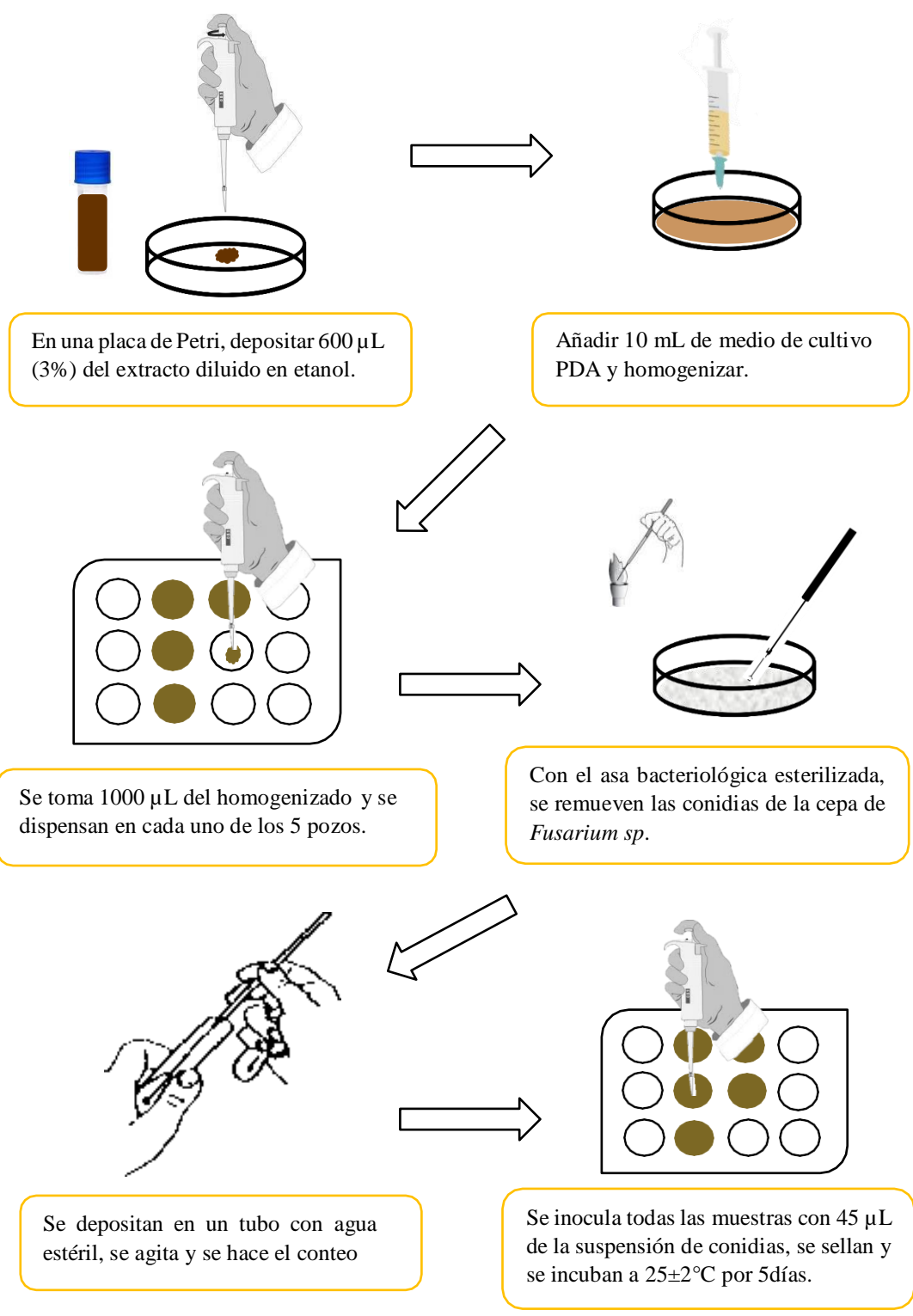


Figura 9. Flujoograma de la evaluación cualitativa.

b) Evaluación cuantitativa ⁽⁵²⁾ (ANEXO N°8)

Esterilización de materiales: En primer lugar, se puso a esterilizar placas de Petri, viales y vasos de precipitado en la estufa, por otro lado, en la autoclave se esterilizó el medio de cultivo y tips para micropipetas de 1000 µL y 200 µL. Este tipo de evaluación se realizó en minis placas de Petri estériles de 6 cm de diámetro. Todos los materiales fueron llevados a la cabina de flujo laminar que previamente fue esterilizada con luz UV germicida.

Preparación de extractos: Los extractos se evaluaron a una concentración de 3% (1500 µL) en relación a la cantidad de PDA utilizado (25 mL) por cada muestra. Para ello, en 10 viales se pesó por duplicado 1 gramo de cada uno de los extractos de las fracciones (a, b, c, d y e) y se disolvió en 1 mL de etanol.

Técnica de medio envenenado: En un vaso de precipitado y con una micropipeta de 1000 µL, se depositó 1500 µL de la disolución del extracto, seguidamente, se añadió 25 mL de medio de cultivo y se homogenizó ligeramente. Rápidamente, se dispensó 5 mL por cada mini placa de petri, se realizaron 5 repeticiones por cada extracto de cada fracción más 1 control positivo y negativo.

Control positivo: PDA + fungicida comercial Benzomil® 500

Control negativo: PDA

Las mini placas de petri se dejaron enfriar para que el PDA se solidifique y realizar la inoculación.

Inoculación: En la cepa de *Fusarium sp.* se realizaron discos de 6mm de diámetro y con ayuda de un asa bacteriológica esterilizada, se procedió a depositar el disco de micelio en la parte central de cada placa. Finalmente, las placas fueron selladas con parafilm e incubadas durante 9 días controlando una temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

Interpretación de resultados: Se midió el crecimiento en centímetros de diámetro del hongo en el extracto y se aplicó las siguientes fórmulas ⁽⁵³⁾.

$$\% \text{ Crecimiento} = \frac{\text{Diámetro del crecimiento del hongo en el extracto}}{\text{Diámetro del control negativo}} \times 100$$

$$\% \text{ de Inhibición} = 100 - \% \text{ de Crecimiento}$$

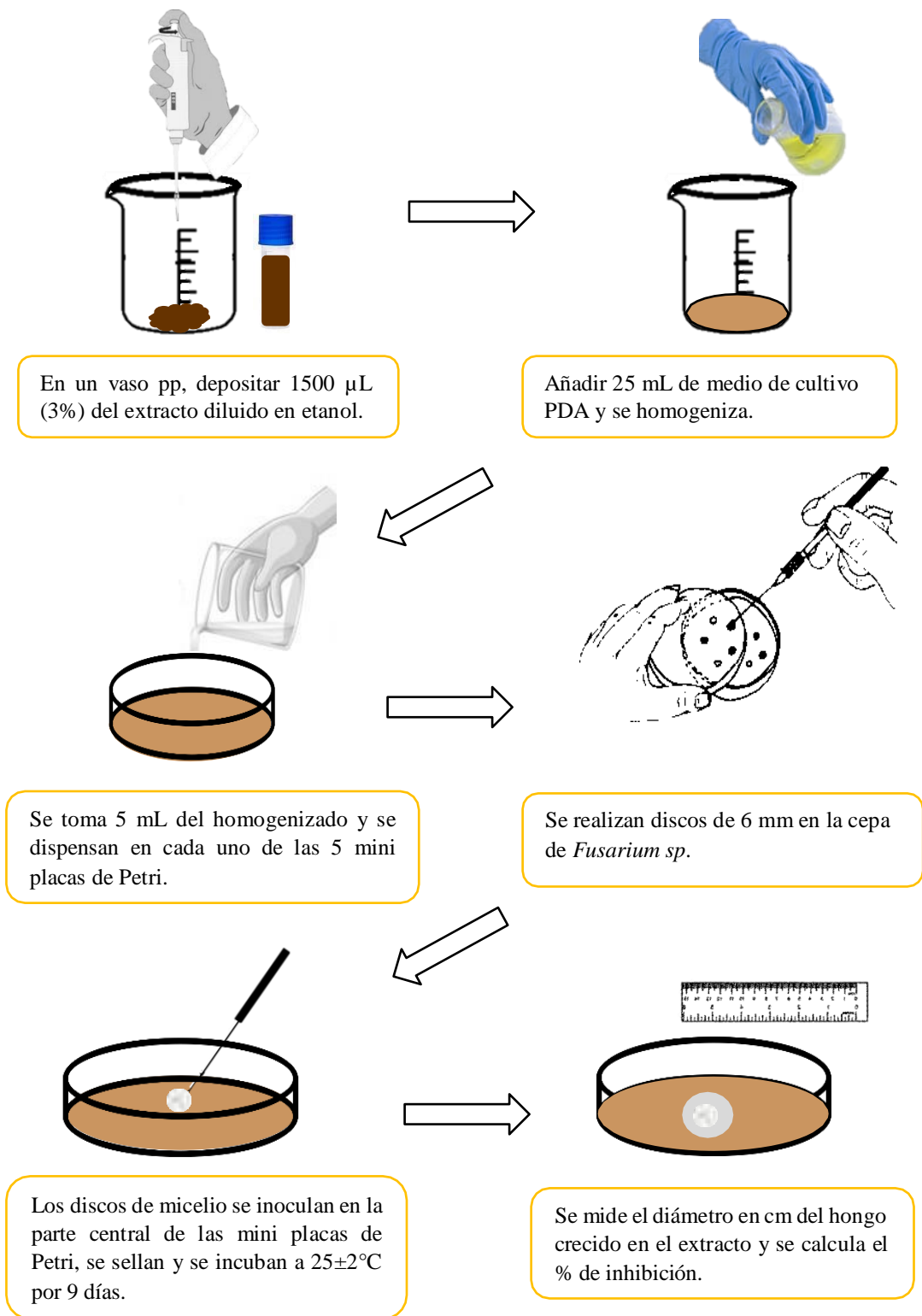


Figura 10. Flujograma de la evaluación cuantitativa

c) Concentración mínima inhibitoria (CMI) ⁽⁵⁴⁾ ⁽⁵⁵⁾

Para este ensayo, se siguió la técnica de la evaluación cualitativa, donde los extractos fueron sometidos a distintas concentraciones para poder encontrar la mínima concentración expresado en porcentaje para la inhibición total del hongo fitopatógeno *Fusarium sp.*

Para su desarrollo se tuvo como base los resultados de la primera evaluación cualitativa, a partir de estos, se aumentaron o disminuyeron las concentraciones. En este ensayo solo se realizaron 3 repeticiones usándose 5 mL de PDA en cada una de las muestras.

Tabla 1. Concentraciones utilizadas de las fracciones derivadas del extracto etanólico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON en el ensayo preliminar para la Concentración Mínima Inhibitoria.

Muestra	Concentración	Repeticiones
Fracción A	1% (100 µL)	3
	1,5% (150 µL)	
	2% (200 µL)	
	2,5% (250 µL)	
Fracción B	5% (500 µL)	3
	7,5% (750 µL)	
	10% (1000 µL)	
Fracción C	1% (100 µL)	3
	1,5% (150 µL)	
Fracción D	3,5% (350 µL)	3
	4% (400 µL)	
	4,5% (450 µL)	
	5% (500 µL)	
Fracción E	5% (500 µL)	3
	7,5% (750 µL)	
	10% (1000 µL)	

Fuente: Elaboración propia

Tabla 2. Concentraciones utilizadas de las fracciones derivadas del extracto etanólico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON en el ensayo para la Concentración Mínima Inhibitoria.

Muestra	Concentración	Repeticiones
Fracción A	2,5% (250 µL)	3
	2,6% (260 µL)	
	2,7% (270 µL)	
	2,8% (280 µL)	
	2,9% (290 µL)	
	3% (300 µL)	
Fracción B	4,2% (420 µL)	3
	4,3% (430 µL)	
	4,4% (440 µL)	
	4,5% (450 µL)	
	4,6% (460 µL)	
	4,7% (470 µL)	
	4,8% (480 µL)	
	4,9% (495 µL)	
Fracción C	1% (100 µL)	3
	1,1% (110 µL)	
	1,2% (120 µL)	
	1,3% (130 µL)	
	1,4% (140 µL)	
	1,5% (150 µL)	
	1,6% (160 µL)	
Fracción D	3,4% (340 µL)	3
	3,5% (350 µL)	
	3,6% (360 µL)	
	3,7% (370 µL)	
	3,8% (380 µL)	
	3,9% (390 µL)	
	4% (400 µL)	

Fuente: Elaboración propia

d) Recuento de conidias ⁽⁵⁵⁾ (ANEXO N°8)

Una vez cumplido el tiempo de incubación de las placas resultantes del método cualitativo, se depositó 1 mL de agua estéril en cada una de ellas y con ayuda de una espátula se removió suavemente las conidias para que luego sean contadas en el microscopio utilizando una cámara de Neubauer. Una vez realizado el conteo se aplicó la siguiente fórmula.

$$\text{Conidias/ml} = \# \text{ conidias contadas} \times \text{disolución empleada} \times \text{factor cámara}$$

2.7. Técnicas de procesamientos de la información

2.7.1. Recolección de datos analíticos:

Se realizaron en cuadernos de trabajo donde se procedió a registrar todos los datos y resultados de los métodos aplicados para su posterior procesamiento.

2.7.2. Procesamiento, interpretación y análisis de datos:

Estos datos fueron tratados por métodos estadísticos paramétricos y no paramétricos a través del programa Microsoft Excel, los ensayos fueron realizados de manera aleatoria y fueron analizados por el software estadístico Minitab donde se realizó un análisis de varianza mediante el método Tukey con una significancia de 0.05, lo que permitirá obtener una información más confiable y sintetizada.

2.8. Aspectos éticos

En todo el transcurso del desarrollo del presente trabajo de investigación, se ha basado bajo todos los aspectos éticos que rigen toda investigación académica científica, se ha respetado los conocimientos utilizados de diversos autores referenciándolos de manera correcta. Se estableció un acuerdo de ética entre el asesorado y los asesores durante la práctica y el desarrollo del trabajo. Así mismo, el equipo de investigación de la presente tesis, declara no tener ningún conflicto de interés de ningún tipo.

III. RESULTADOS

3.1. Screening fitoquímico

Tabla 3. Metabolitos secundarios de las fracciones derivadas del extracto etanólico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON.

Fracciones	Reacciones	Metabolitos	Resultados	Observación
A	Rx. Shinoda	Flavonoides	+	Color ligeramente rosado
	Rx. Gelatina	Taninos	+	Precipitado
	Rx. Cloruro Férrico	Grupos Fenólicos libres	+	Color azul - negro
	Ninhidrina	Aminoácidos	+	Color azul violáceo
B	Rx. Libermann Burchard	Triterpenos y/o esteroides	+	Color azul verdoso
	Rx. Borntrager	Quinonas	-	Color marrón
C	Rx. Libermann Burchard	Triterpenos/esteroides	+	Color azul verdoso
	Rx. Kedde	Cardenólidos	-	Color Amarillo
	Rx. Dragendorff		+	Precipitado anaranjado
	Rx. Mayer	Alcaloides	+	Precipitado blanco
	Rx. Wagner		+	Precipitado marrón
D	Rx. Dragendorff		+	Precipitado anaranjado
	Rx. Mayer	Alcaloides	+	Precipitado blanco
	Rx. Wagner		+	Precipitado marrón
	Rx. Kedde	Cardenólidos	-	Color marrón
	Rx. Shinoda	Flavonoides	+	Color rojizo
	Rx. Rosenheim	Leucoantocianidinas/Catequinas	+	Color marrón (catequinas)
	Rx. Libermann Burchard	Triterpenos/esteroides	-	Color marrón claro
E	Rx. Shinoda	Flavonoides	+	Color rojizo
	Rx. Rosenheim	Leucoantocianidinas/Catequinas	+	Color marrón (catequinas)

Leyenda: Presencia (+); Ausencia (-) Fuente: Los Autores

3.2. Morfología de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON

La especie *Tecoma fulva* “cahuato”, es una planta de tipo arbustiva de follaje perenne que puede llegar a medir hasta 2 metros de altura, presenta una raíz típica y su tallo es leñoso con nudos y entrenudos semipronunciados presentando abundantes ramas.

- a) **Hojas:** Son compuestas de 10 a 12 cm de largo, presenta 9 a 15 folíolos de 3 a 4 cm de largo, son peciolados, penninervios, sentados, dispuestos en forma opuesta de par en par alternadamente, presenta bordes levemente dentados y son de color verde grisáceo.
- b) **Flores:** Presenta una inflorescencia de tipo panícula, pedunculadas, pendulares y terminales.
 - Cáliz: Gamosépalo, pentámero de color verde.
 - Corola: Gamopétala, pentámera, tubulosa con 5 a 8 cm de largo y son de color rojo anaranjado considerándose como ornamental.
 - Androceo: 4 estambres ditésicos.
 - Gineceo: Completo de ovario súpero.
- c) **Fruto:** Vainitas capsulares, angostas, deshicente, largas de 6 a 7 cm y con semillas aladas.

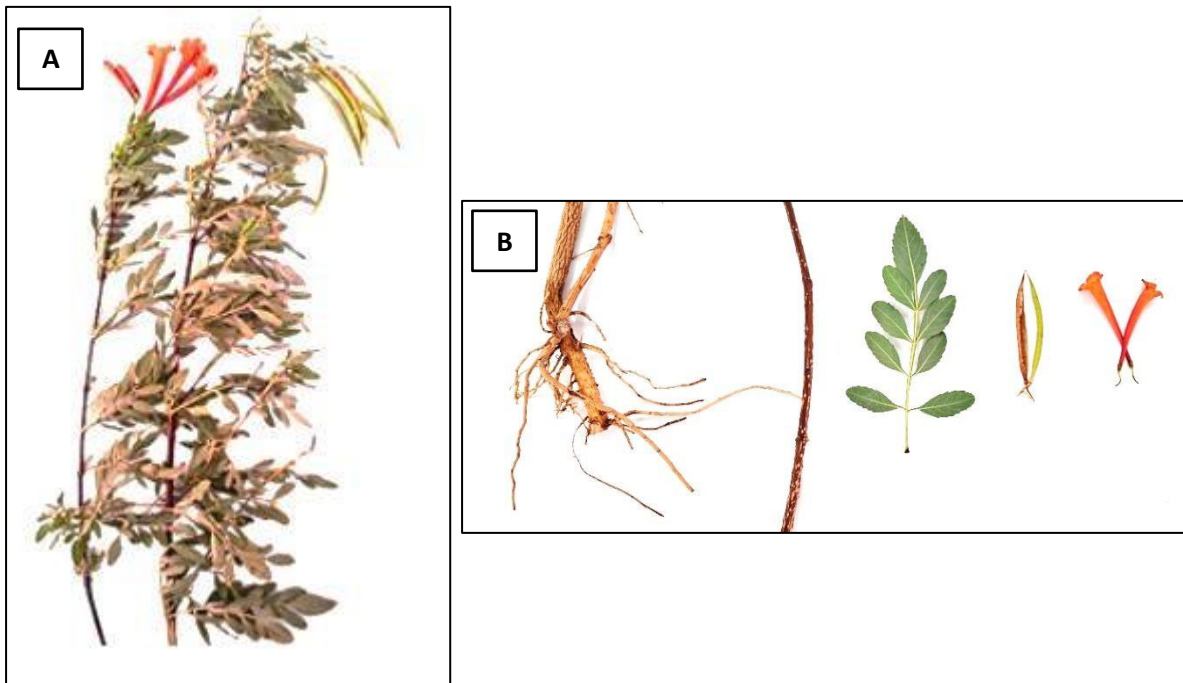


Figura 11. Planta de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON. (A) Planta entera, (B) Órganos vegetales

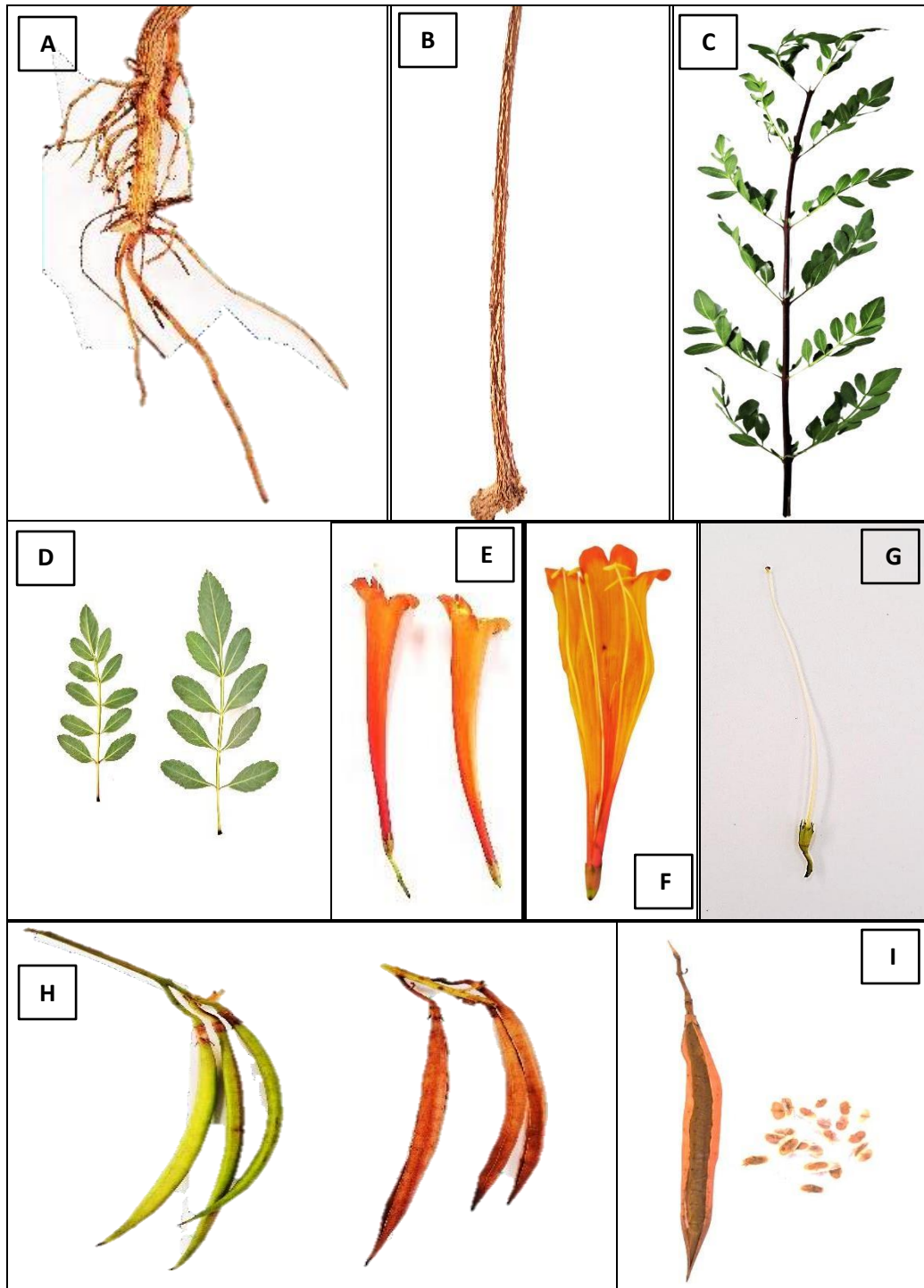


Figura 12. Órganos vegetales de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON: (A) Raíz, (B) Tallo, (C) Hojas compuestas, (D) Hojas con foliolos, (E) Flores, (F) Androceo, (G) Gineceo, (H) Frutos verdes y secos, (I) Semillas.

3.3. Histología de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON

a) Hojas

En la observación del corte transversal de la hoja se pudo observar los siguientes tejidos:

- Tejidos protectores: Encontramos a la epidermis superior con su respectiva cutícula que son los que protege a la célula vegetal aislándola del exterior y está compuesta por gruesas células transparentes, así también, encontramos a la epidermis inferior o abaxial, también se observa una pequeña cantidad de pelos unicelulares, pluricelulares y glandulosos, así como estomas generalmente ubicadas en la epidermis superior.
- Tejido de conducción: Se observó la presencia de xilema o leño (vasos de conducción de agua y sales minerales) y el líber o floema (vasos de conducción de sabia elaborada – bruta).
- Tejidos de sostén: Encontramos a las células colenquimáticas superiores e inferiores, además, las células esclerenquimáticas.
- Tejidos de elaboración: Se observó el parénquima clorofiliano empalizado con 1 hilera de células alargadas e isodiamétricas llenas de cloroplastos conteniendo clorofila y debajo de ellas, se observa el parénquima clorofiliano lagunoso o esponjoso con células irregulares que dejan pequeños espacios.

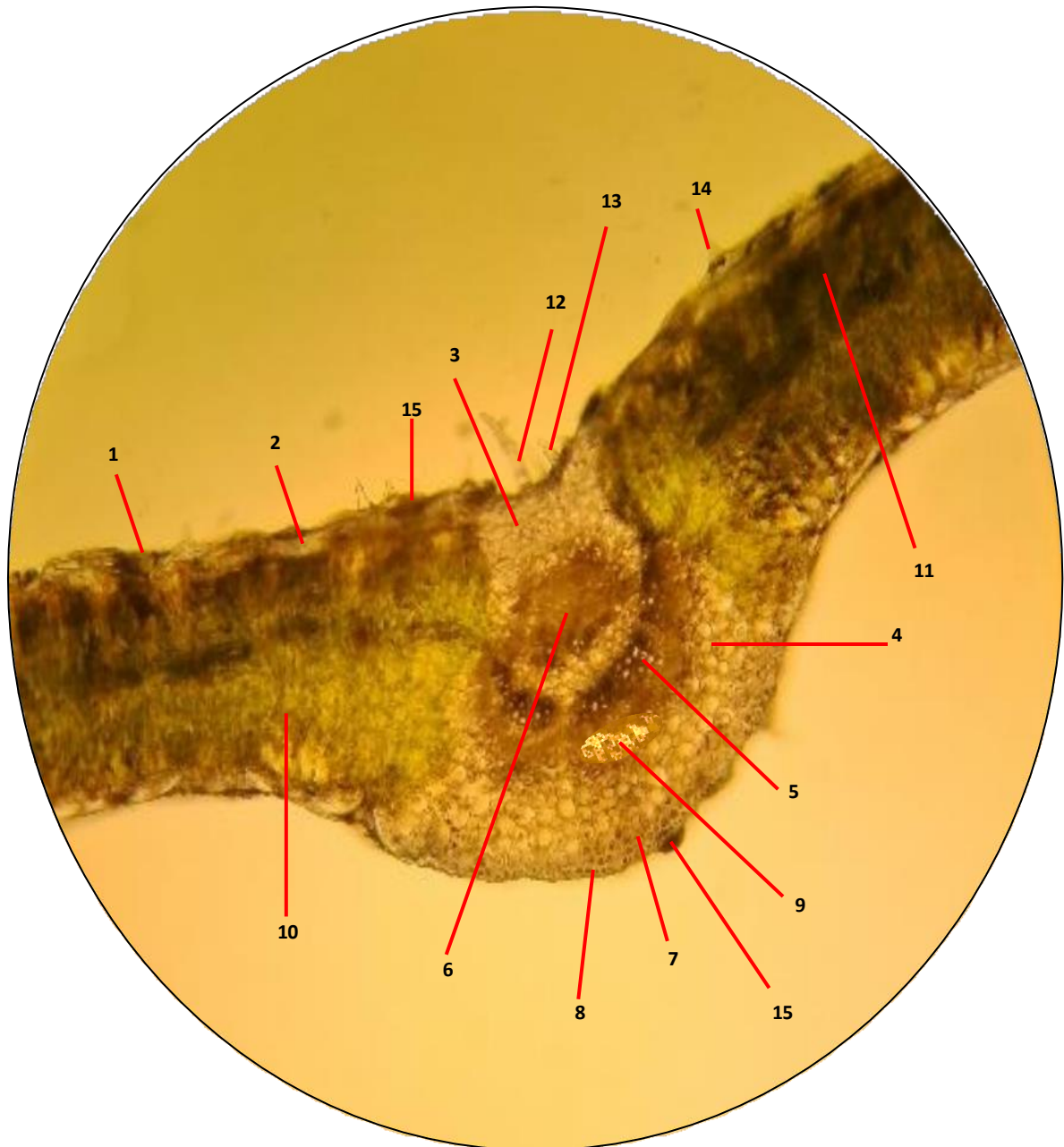


Figura 13. Corte transversal de la hoja de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON:

(1) Cutícula, (2) Epidermis superior, (3) Células colenquimáticas superiores, (4) Parénquima de relleno o mesófilo, (5) Xilema o leño, (6) Líber o floema, (7) Células colenquimáticas inferiores, (8) Epidermis inferior, (9) Células esclerenquimáticas, (10) Parénquima clorofiliano en empalizado, (11) Parénquima clorofiliano lagunar o esponjoso, (12) Tricoma pluricelular, (13) Tricoma unicelular, (14) Tricoma glanduloso.

b) Raíz:

La histología de la raíz de afuera hacia dentro se ve una capa delgada con células de color marrón que corresponde al súber, luego encontramos el parénquima cortical externo constituido por: Felógeno, con 3 hileras de células isodiamétricas de regular tamaño y el felodermis con 6 a 7 hilera de células más pronunciadas. Seguidamente, se observó el cambium y debajo de ellos encontramos al parénquima cortical interno que constituye células de menor tamaño, encontrando el floema y xilema, el floema secundario y terciarios se encuentra en el parénquima cortical externo, el primario en el parénquima cortical interno y en el centro se localiza la zona medular con células poligonales de color claro (Figura.14).

Pruebas histoquímicas

Tabla 4. Tamizaje histoquímico de las hojas, raíces y flores de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON

Metabolito	Reactivo	Resultado
Alcaloides	Dragendorff	+
Taninos	Cloruro férrico	+
Almidón	Lugol	-
Saponinas	Ácido Sulfúrico cc	+
Oxalato de calcio	Ácido Cúprico	+
Mucílagos	Azul de Cresil 1%	+
Grasas y aceites	Sudán IV	-
Celulosa	Clorioduro de zinc	+

Fuente: Elaboración propia

Los metabolitos que se identificaron en los tejidos de la hoja, raíz y flor de la especie en estudio fueron: alcaloides, taninos, saponinas, oxalatos de calcio, mucílagos en gran cantidad y celulosa, estos fueron observados y ubicados microscópicamente en el corte histológico. Teniéndose los mismos resultados en los 3 órganos vegetales.

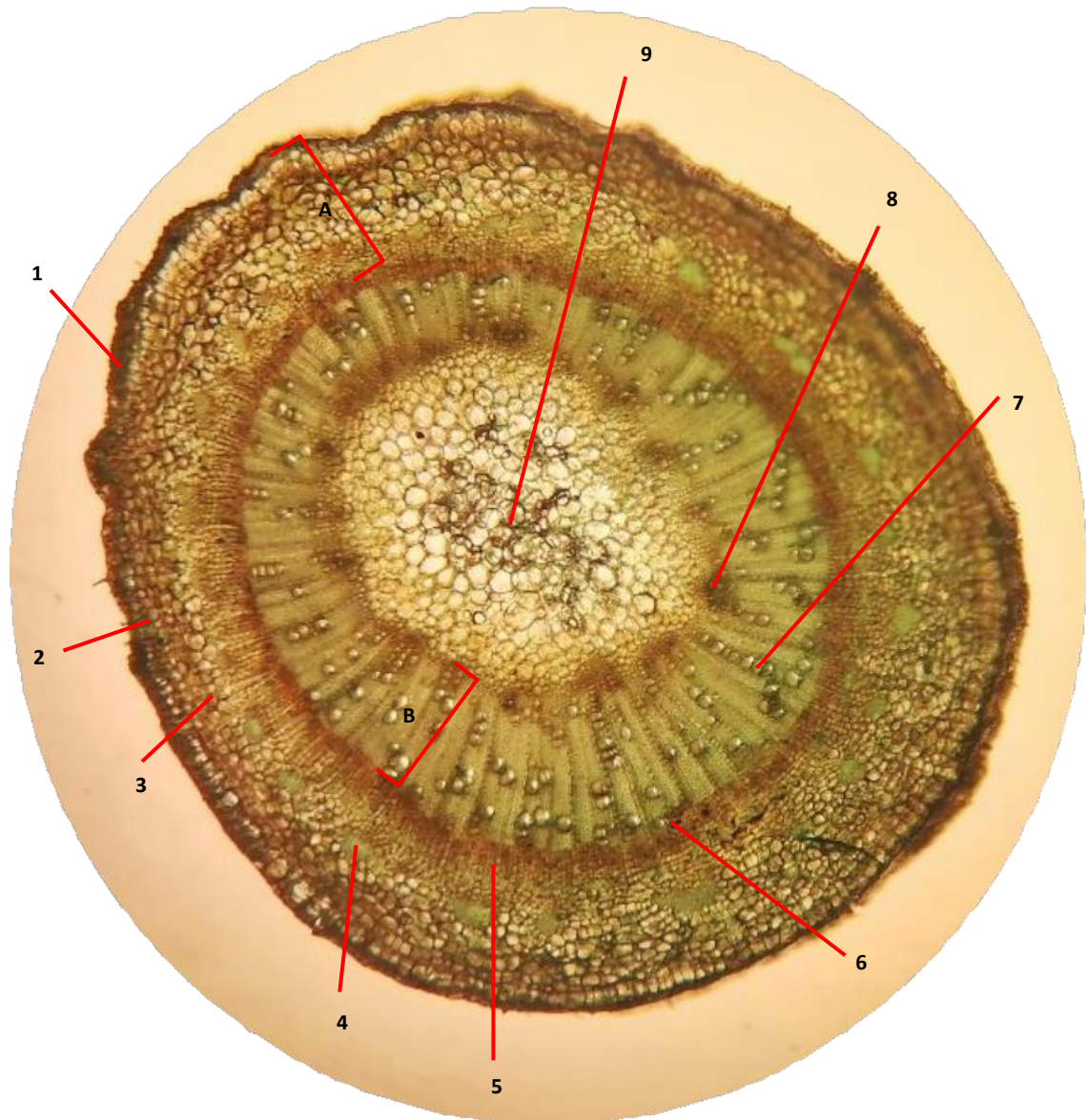


Figura 14. Corte transversal de la raíz de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON: (A) Parénquima cortical externo, (B) Parénquima cortical interno, (1) Súber, (2) Felógeno, (3) Felodermis, (4) Líbero o floema terciario, (5) Líber o floema secundario, (6) Cámbium, (7) Leño o xilema – Vasos xilemáticos, (8) Líber o floema primario, (9) Zona medular.

3.4. Actividad antifúngica

3.4.1. Evaluación cualitativa (ANEXO N°9)

Tabla 5. Inhibición del crecimiento micelial (ICM) de *Fusarium sp.* frente a controles y fracciones obtenidas.

Tratamientos	<i>Fusarium sp.</i>
Control (-)	ICM nula
Control (+)	ICM total
Fracción A	ICM total
Fracción B	ICM baja
Fracción C	ICM total
Fracción D	ICM alta
Fracción E	ICM nula

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 5. Se observa la escala de inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium sp.* que alcanzaron las fracciones derivadas del extracto etanólico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G. DON con 5 repeticiones a una concentración de 3% terminado los 5 días de incubación, así como el efecto del control negativo y positivo que consistió en una disolución del producto antifúngico comercial Benzomil 500 a una concentración de 0.1% según etiqueta. Evidenciándose una inhibición total por parte del control positivo y la fracción C.

3.4.2. Evaluación cuantitativa (ANEXO N°10)

En la figura 15. Se observa un gráfico de serie tiempo que representa el diámetro de crecimiento radial de *Fusarium sp.* en centímetros que tuvieron los controles y fracciones derivadas del extracto etanólico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON a una concentración de 3% durante el 3er, 5to, 7mo y 9no día de incubación. Donde el control + y la fracción C tuvo “0” cm de crecimiento durante los 9 días.

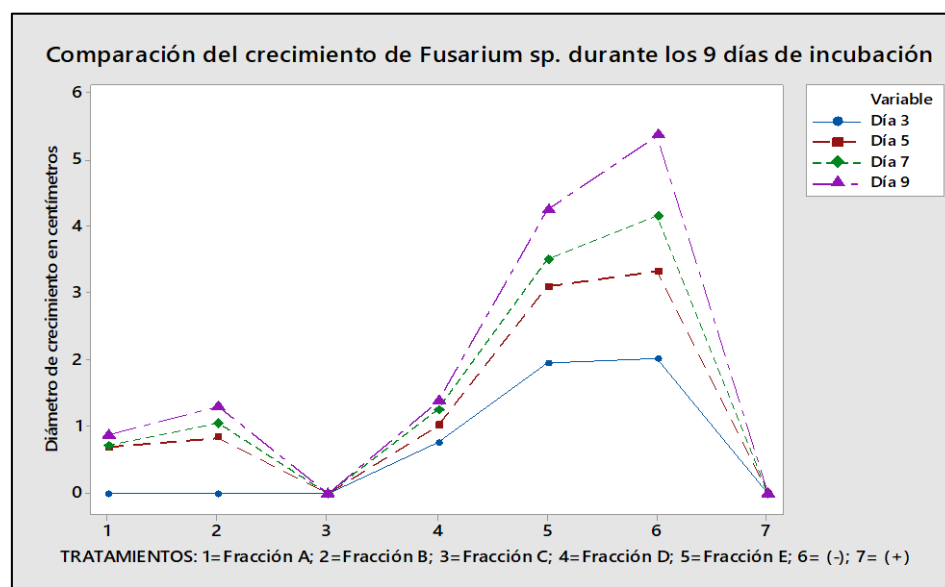


Figura 15. Diámetro de crecimiento en centímetros de *Fusarium sp.* frente a los controles y fracciones obtenidas.

Tabla 6. Evaluación de la inhibición del crecimiento radial (ICR) de *Fusarium sp.* frente a los controles y fracciones obtenidas, en el 9no día de incubación.

Nº de placa	Control (-)	Fracción A	Fracción B	Fracción C	Fracción D	Fracción E	Control (+)
1	5.2	1.0	1.2	0.0	1.2	N	0.0
2	5.6	0.9	1.5	0.0	1.6	N	0.0
3	5.5	0.8	1.4	0.0	1.5	N	0.0
4	5.2	0.8	1.2	0.0	1.4	4.0	0.0
5	5.3	0.9	1.2	0.0	1.2	4.5	0.0
Promedio	5.36	0.88	1.30	0.00	1.38	4.25	0.00
% INHIBICIÓN							
1	0.00	81.34	77.61	100.00	77.61	N	100.00
2	0.00	83.21	72.01	100.00	70.15	N	100.00
3	0.00	85.07	73.88	100.00	72.01	N	100.00
4	0.00	85.07	77.61	100.00	73.88	25.37	100.00
5	0.00	83.21	77.61	100.00	77.61	16.04	100.00
Promedio	0.00	83.58	75.75	100.00	74.25	20.71	100.00

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 6. Se representa los promedios de los diámetros de crecimiento radial en centímetros de *Fusarium sp.* y los porcentajes de inhibición de los controles y de cada fracción derivada del extracto etanólico de las hojas *Tecoma fulva* (CAV)G.DON a una concentración de 3% con 5 repeticiones en el 9no día de evaluación. Y el porcentaje mayor de inhibición fue la fracción C con un 100%.

Tabla 7. Estadísticos básicos de los diámetros de crecimiento radial en centímetros de *Fusarium sp.* mediante el Método Tukey.

Factor	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Control (-)	5.00	5.36	0.18	(5.2307; 5.4893)
Fracción A	5.00	0.88	0.08	(0.7507; 1.0093)
Fracción B	5.00	1.30	0.14	(1.1707; 1.4293)
Fracción C	5.00	0.00	0.00	(-0.129342; 0.129342)
Fracción D	5.00	1.38	0.18	(1.2507; 1.5093)
Fracción E	2.00	4.25	0.35	(4.045; 4.455)
Control (+)	5.00	0.00	0.00	(-0.129342; 0.129342)

Desv.Est. agrupada = 0.140428

Fuente: Elaboración propia – Minitab 18

Leyenda: Factor: Tratamientos, N: Número de repeticiones, Media: Promedio de las repeticiones de cada atamiento, Desv.Est: Desviación estándar, IC de 95%: Intervalo de confianza.

En la tabla 7. Se observa las medias de los diámetros de crecimiento radial en centímetros de *Fusarium sp.* en el 9no día de incubación junto con las desviaciones estándar e intervalo de confianza de 95% con cada fracción derivada del extracto etanólico de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON a una concentración de 3% y controles, con 5 repeticiones por cada tratamiento. Se obtuvo una desviación estándar agrupada de 0.140428, y las medias se encuentran dentro del rango del IC lo que demuestra la confiabilidad de nuestros datos.

Siguiendo con los resultados, se realizó una representación en gráfico de cajas con los datos de la tabla 7. Se presenta en la figura 16, donde los círculos son las medias y los intervalos de confianza al 95% son las cajas.

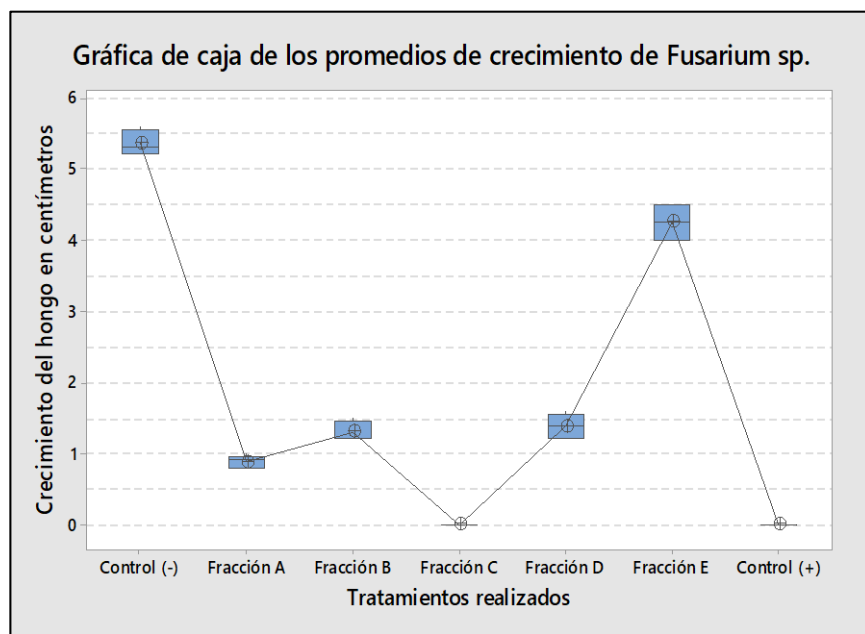


Figura 16. Representación gráfica en cajas de las medias de crecimientos e intervalo de confianza entre los tratamientos.

Tabla 8. Diámetros de crecimiento radial de *Fusarium sp.* mostrando las diferencias significativas entre las fracciones y controles evaluados.

Factor	N	Media	Agrupación
Control (-)	5	5.36	A
Fracción E	2	4.25	B
Fracción D	5	1.38	C
Fracción B	5	1.30	C
Fracción A	5	0.88	D
Control (+)	5	0.00	E
Fracción C	5	0.00	E

Fuente: Elaboración propia – Minitab 18

Se realizó una comparación entre todas las medias del crecimiento radial en centímetros de *Fusarium sp.* de todos los tratamientos evaluados. Las medias con la letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) según el método de Tukey. Es por ello que, las fracciones D y B al igual que fracción C con el control +,

no son significativamente diferentes, por otro lado, todas las fracciones son significativamente diferentes al control -.

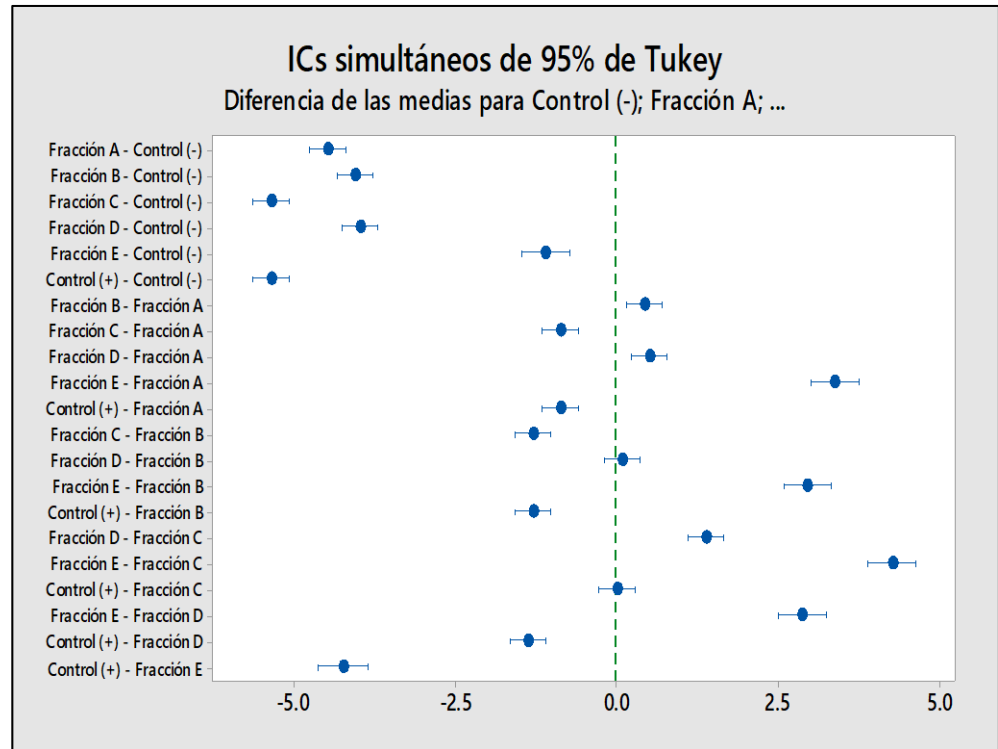


Figura 17. Prueba simultánea de Tukey para diferencias entre las medias de las fracciones y controles evaluados.

En la figura 17. Se representa gráficamente la comparación establecida en la tabla 8. donde sí un intervalo no contiene cero, las medias correspondientes son significativamente diferentes, es así que se corrobora la agrupación de la tabla anterior, donde la fracción D y B, así como la fracción C con el control + no son significativamente diferentes, a diferencia de los demás tratamientos.

3.4.3. Concentración mínima inhibitoria (CMI) (ANEXO N°11)

Se realizaron ensayos preliminares en la inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium sp.* poniendo a prueba las fracciones obtenidas del extracto etanólico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON a diferentes concentraciones, para esta evaluación, las fracciones que dieron una inhibición alta a total a partir de los resultados obtenidos en la primera evaluación cualitativa llevada a cabo al 3%, las concentraciones se aumentaron o disminuyeron en un intervalo de 0,5%, y en caso de las fracciones que obtuvieron una concentración baja y nula, se vio por conveniente aumentar la concentración en un rango de 2,5%, resultando la escala de inhibición presentada en la tabla 9.

Tabla 9. Resultados preliminares de la Inhibición del crecimiento micelial (ICM) de *Fusarium sp.* con las fracciones obtenidas a diferentes concentraciones y controles evaluados.

Tratamientos	%C	<i>Fusarium sp.</i>
Control (-)	-	ICM nula
Control (+)	0,1%	ICM total
Fracción A	1%	ICM nulo
	1,5%	ICM bajo
	2%	ICM medio
	2,5%	ICM alto
Fracción B	5%	ICM total
	7,5%	ICM total
	10%	ICM total
Fracción C	1%	ICM Nulo
	1,5%	ICM total
Fracción D	3,5%	ICM alta
	4%	ICM total
	4,5%	ICM total
	5%	ICM total
Fracción E	5%	ICM nula
	7,5%	ICM nula
	10%	ICM nula

Fuente: Elaboración propia

Una vez obtenidos los resultados preliminares y acercándonos a la concentración mínima inhibitoria (CMI) de cada fracción, se redujo o aumentaron las concentraciones, pero ahora en un intervalo de 0,1% para tener la CMI más exacta, encontrándose para la fracción A una CMI de 2,6%, la fracción B fue de 4,9%, la fracción C de 1,5% y para la fracción D fue de 3,8%. En caso de la fracción E no se le siguió evaluando ya que en los resultados preliminares hasta el 10% no dieron ningún efecto antifúngico. Los resultados se observan en la tabla 10.

Tabla 10. Resultados determinantes de la Inhibición del crecimiento micelial (ICM) de *Fusarium sp.* con las fracciones obtenidas a diferentes concentraciones y controles evaluados.

Tratamientos	%C	<i>Fusarium sp.</i>
Control (-)	-	ICM nula
Control (+)	0,1%	ICM total
Fracción A	2,5%	ICM alto
	2,6%	ICM total
	2,7%	ICM total
	2,8%	ICM total
	2,9%	ICM total
	3%	ICM total
Fracción B	4,2%	ICM medio
	4,3%	ICM medio
	4,4%	ICM medio
	4,5%	ICM medio
	4,6%	ICM alta
	4,7%	ICM alta
	4,8%	ICM alta
	4,9%	ICM total
Fracción C	1%	ICM Bajo
	1,1%	ICM Bajo
	1,2%	ICM Bajo
	1,3%	ICM Medio
	1,4%	ICM Alto
	1,5%	ICM total
Fracción D	3,4%	ICM medio
	3,5%	ICM medio
	3,6%	ICM alto
	3,7%	ICM alto
	3,8%	ICM total
	3,9%	ICM total
	4%	ICM total

Fuente: Elaboración propia

3.4.4. Recuento de conidias

Tabla 11. Promedios del recuento de conidias en las placas resultantes de la evaluación de la inhibición del crecimiento radial de *Fusarium sp.* con las fracciones derivadas del extracto etanólico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON al 3% y con los controles.

Tratamientos	<i>Fusarium sp.</i>
Control (-)	$3,708 \times 10^7$
Control (+)	0
Fracción A	$1,60 \times 10^6$
Fracción B	$4,28 \times 10^6$
Fracción C	0
Fracción D	1×10^5
Fracción E	$1,596 \times 10^7$

Fuente: Elaboración propia

IV. DISCUSIÓN

Hoy en día, el buscar recursos naturales que representen una alternativa en la prevención, tratamiento y porque no decirlo, la cura de algunas enfermedades en el sector salud como así también del medio ambiente, se ha vuelto una ardua labor científica de grupos de investigadores en todo el mundo contribuyendo al avance de la ciencia con el descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos. Es así, que sumándonos a esta tarea se puso en marcha este presente trabajo de investigación que tuvo como objetivo general “Evaluar la actividad antifúngica in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON frente a *Fusarium sp*, identificar los metabolitos secundarios a la que se le atribuirá dicha actividad y estudiar morfo-histológicamente la especie *Tecoma fulva* (CAV) G.DON" procedente del centro poblado de Molletambo del distrito de Yauca del Rosario, provincia y departamento de Ica. Considerando que son casi nulo estudios que se han realizado con respecto a esta especie que respalden su valor farmacológico, con este trabajo de investigación de tesis pretendemos contribuir a ampliar la poca información ya existente.

En la evaluación fitoquímica, mediante reacciones de coloración y precipitación se identificaron los metabolitos presentes en las fracciones (A, B, C, D y E) obtenidas a partir del extracto etanólico de las hojas de la especie en estudio (Ver Tabla 3), se realizó siguiendo la técnica propuesta por Lock de Ugas, 1994 ⁽⁴⁵⁾. Se evidenció mayoritariamente la presencia de flavonoides, taninos, grupos fenólicos libres, aminoácidos, triterpenos y/o esteroides, alcaloide y catequinas. No se cuentan con estudios fitoquímicos previos propio de esta especie vegetal, pero se han reportado diversos estudios de otras especies del género *Tecoma*. En ese sentido, los resultados obtenidos son parcialmente coincidentes con el estudio fitoquímico del extracto etanólico de las partes aéreas y raíces de *Tecoma gaudichauidi* realizado por Alexhya V *et al.* (2022) ⁽⁸⁾ donde solo difirió en la ausencia de aminoácidos y taninos, así mismo, los resultados coinciden totalmente con lo reportado por Chávez P *et al.* (2023) ⁽¹²⁾ en el extracto etanólico de las hojas de *Tecoma fulva subsp. Arequipensis*. Por otro lado, Izquierdo D *et al.* (2020) ⁽¹³⁾ en el extracto etanólico de las hojas *Tecoma stans* (L.) Juss. *ex Kunth*, reportó la ausencia de compuestos triterpenoides lo que difiere de nuestro resultado. Nuestros datos reportados son de mucha importancia ya que con ellos se podrán inferir posibles nuevas actividades farmacológicas que serán temas de nuevas investigaciones.

En cuanto a la investigación en conjunto de la morfo-histología de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON, tampoco se tiene ningún estudio previo, por lo que la descripción aportada es una contribución muy importante para su mejor entendimiento. En la figura 13 y 14 se puede observar gráficamente las características morfológicas de los órganos vegetales de la especie en estudio, la descripción

morfológica general coincide parcialmente con los estudios de Tupayachi J (2016) ⁽¹⁴⁾ y Madera J (2008) ⁽¹⁵⁾ de los cuales podemos corroborar: Arbusto de gran altura, tallo ramificado, hojas compuestas con 3 a 21 foliolos, flores terminales, tubulosas, pentámeras con corola tubular rojo anaranjado y 4 estambres amarillos, fruto capsular y semillas planas y aladas. Sin embargo, cabe recalcar que en estos estudios no se describieron al tallo y raíz, así mismo, es importante mencionar que los datos de las medidas longitudinales de los órganos vegetales de dichas investigaciones, fueron los que difirieron con nuestros resultados, esta diferencia podría deberse a los diferentes lugares donde habitaba esta especie vegetal, ya que se dice que el lugar de desarrollo modela la morfología de las especies dentro de su historia natural, adaptándose a las variaciones de condiciones ambientales ⁽⁵⁶⁾.

Con esta tesis, se presenta por primera vez el estudio histológico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON, sin embargo, previamente se han reportado investigaciones con respecto al género *Tecoma*, por ejemplo, Kerlyn L (2022) ⁽⁹⁾ que hizo una descripción histológica para la especie *Tecoma castanefolia*, y en tanto, Ana M (2013) ⁽⁵⁷⁾ para las especies *Tecoma capensis*, *Tecoma garrocha*, *Tecoma tenuiflora* y *Tecoma stans*. Nuestra descripción histológica coincide en gran parte con los 2 estudios previamente realizados, sin embargo, se encontraron importantes diferencias entre las especies. En todas las especies se encontraron solo tricomas glandulares, en caso de las estomas, en las especies *T. castanefolia*, *T. capensis*, *T. tenuiflora* y *T. stans*, solo se observaron en la epidermis adaxial o superior, clasificándose como estomas hispostomáticas; por otro lado, en caso de *T. garrocha*; se identificaron estomas en ambas caras, en la epidermis adaxial y abaxial, clasificándose como estomas afistomáticos. Con respecto al tipo de mesófilo, en la especie *T. castanefolia* también presenta un mesófilo dorsiventral, pero a diferencia de nuestra especie, *Tecoma fulva* (CAV) G.DON, se observó dos hileras de parénquima clorofiliano en empalizado y 1 hilera de parénquima clorofiliano esponjoso; en la especie *T. capensis*, adicionalmente de los dos tipos de parénquimas, presenta un estrato paraveinal compuesto por grandes células isodiamétricas ubicadas entre los 2 parénquimas; y en caso de la especie *T. garrocha*, presenta un mesófilo homogéneo, contando con solo el parénquima clorofiliano en empalizado con células alargadas pequeñas. En este estudio también se realizó pruebas de histoquímica, resultados que fueron comparados con un estudio realizado en una especie de la familia *Biogninaceae*, Almeida F (2016) ⁽⁵⁸⁾, donde sus hojas presentaron compuestos como almidón, polisacáridos, mucopolisacáridos, terpenoides y fenoles; que no se presentaron en nuestro resultado, sin embargo, son datos que nos permitieron constatar con los metabolitos identificados en el screening fitoquímico. Los resultados obtenidos en el estudio morfo-histológico de la especie *Tecoma fulva* (CAV) G.DON. son de mucha importancia ya que nos brindan características claves para su identificación entre la gran variedad de especies y subespecies que presenta dentro de su género con

muy poca diferenciación entre cada una de ellas, y de esta manera contribuyendo así a que se realice un buen control de calidad botánico.

La actividad antifúngica *in vitro* de las fracciones analizadas, fue cuali-cuantitativamente determinado por la presencia o ausencia de inhibición, diámetro de crecimiento radial en centímetros, porcentajes de inhibición, determinación de la concentración mínima inhibitoria de cada fracción y recuento de conidias de las mismas. Con respecto a la evaluación cualitativa, en la tabla 5, indica las escalas de inhibición del crecimiento micelial de hongo fitopatógeno *Fusarium sp.* que alcanzó cada fracción a una concentración de 3%, observándose que las fracciones A y C, al igual que el control positivo, inhibieron totalmente el crecimiento del hongo, así mismo, se alcanzó una inhibición alta, baja y nula de las fracciones D, B y E respectivamente. No se encontraron estudios de este tipo con relación a nuestra especie, sin embargo, es importante mencionar que varios investigadores como Guillén M *et al.* (2023)⁽⁵⁴⁾ y Navas N *et al.* (2024)⁽⁵⁹⁾ han empezado a utilizar la técnica de evaluación antifúngica *in vitro* en placas multipozos en el control biológico de hongos fitopatógenos, refiriendo su efectividad y eficacia ya que permite una obtención rápida de resultados, alta reproducibilidad de los datos, evaluación a diferentes concentraciones con distintas muestras en una misma placa, reduciendo la cantidad utilizada de muestras y medio de cultivo, aumentando así su rendimiento. En la evaluación cuantitativa, se obtuvo los porcentajes de inhibición del crecimiento radial de *Fusarium sp.* por parte de los controles y fracciones obtenidas; se observó que, la fracción A inhibió un 83,58%, la fracción B en 75,75%, la fracción C inhibió totalmente el desarrollo del hongo con un 100% de inhibición, al igual que el control +, la fracción D un 74,25%, demostrándose que presentan una muy buena actividad antifúngica, ya que superan el 70% de inhibición que según Ramírez C. *et al.* (2023)⁽⁶⁰⁾ es el porcentaje adecuado para decir que tiene efectividad antifúngica, caso contrario, la fracción E presentó un bajo porcentaje de 20,71% considerándose como no antifúngico. Estos resultados se pueden comparar con un estudio realizado por Moraba M *et al.* (2017)⁽⁶¹⁾ en el género *Tecoma* pero en la especie *Tecoma stans*, donde coinciden en que la fracción de diclorometano es la que tiene mayor actividad antifúngica contra *Fusarium sp.* debido al ácido oleanólico aislado, esta también podría ser el metabolito responsable de la actividad de nuestra fracción C ya que es un tipo de triterpenoide que según el screening fitoquímico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G. DON. nos dió positivo. La sinergia de los metabolitos secundarios presenten en cada fracciones se puede relacionar con su efectividad antifúngica, ya que según Rodríguez A. *et al.* (2015)⁽⁷⁾ los compuestos fenólicos como los flavonoides y taninos, van actuar contra la pared celular, destruyéndola y también lo hace interfiriendo en el cambio de iones en su membrana celular inhibiendo así las síntesis de proteínas y enzimas vitales para su formación y desarrollo; así también, Pérez C. *et al.* (2011)⁽⁶²⁾ describe que los triterpenos/esteroides actúan alternado la morfología de las hifas y también actúan

sobre la membrana celular del hongo desintegrándola mediante los compuestos lipofílicos; los alcaloides por su parte se adhieren a la cadena de ADN o pueden atravesar su pared celular causando la deformación de proteínas, esos serían los principales metabolitos secundarios que presentan actividad antifúngica. A base de los resultados, se realizó un análisis estadístico de ANNOVA y una comparación de medias mediante el método Tukey, donde mediante gráficas y tablas se establece que la fracción B y D no tienen diferencias significativas, por lo que presentan el mismo efecto; así mismo, el control + comparte el mismo efecto con la fracción C que fue la fracción más activa derivada del extracto de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON con una concentración mínima inhibitoria de 1,5%, esta efectividad se puede deber a que los metabolitos extraídos por diclorometano presentan una mayor actividad antifúngica, de esta manera, generando una acción sinérgica entre ellos, así también se podría decir que las demás fracciones al presentar una variedad de metabolitos secundarios, algunos de ellos puedan tener una acción limitante en esta efectividad así solo presentando una inhibición moderada, lo que en la fracción C esta interferencia podría no presentarse y por ende no afectar su acción, lo que le permite inhibir totalmente el crecimiento radial del hongo. Finalmente, se realizó un recuento de conidias en los controles y fracciones luego de ser evaluadas, donde el control positivo que consiste en el producto químico Benzomil 500, con la fracción C, al no presentar crecimiento radial, inhibieron totalmente la formación de conidias es por ello que se podría considerar como productos fungicidas; la fracción D, tuvo una cantidad de 1×10^5 conidias/ml a pesar de haber presentado un mayor crecimiento radial del hongo con respecto a la fracción A y B que tuvieron $1,60 \times 10^6$ y $4,28 \times 10^6$ respectivamente, este comportamiento de la fracción D es fundamentada por Sánchez G. *et al.* (2015)⁽⁶³⁾ que menciona que el hongo al enfrentarse a extractos vegetales a distintas concentraciones tiene una respuesta variable, es por ello que algunos extractos van a inhibir la formación de conidias y otros van actuar inhibiendo el crecimiento del hongo. Así mismo, Reyes C. *et al.* (2014)⁽⁶⁴⁾ menciona que existen metabolitos que tiene la capacidad de inhibir la formación de conidias como los flavonoides y alcaloides, esto corroboraría nuestro resultado ya que en el screening fitoquímico de la fracción D se identificó la presencia de estos dos compuestos. Finalmente, el resultado de este estudio demuestra la actividad antifúngica de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON en el hongo fitopatógeno *Fusarium sp.* representando ser una alternativa ecoamigable y sobre todo segura para salud humana.

V. CONCLUSIONES

A partir del siguiente trabajo de investigación se puede concluir lo siguiente:

1. Los metabolitos encontrados en el Screening fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON en la mayoría de las fracciones fueron: flavonoides, taninos, grupos fenólicos libres, aminoácidos, triterpenos y/o esteroides, alcaloides y catequinas.
2. Se describió morfo-histológicamente la especie *Tecoma fulva* (CAV) G.DON, observándose estructuras y características claves para su correcta identificación, así mismo se observó la presencia de taninos, saponinas, alcaloides, oxalatos, mucílagos y celulosa en los tejidos de sus hojas, raíces y flores.
3. Según la evaluación cuantitativa *in vitro*, las fracciones A, B, C y D obtenidas del extracto etanólico de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON presenta actividad antifúngica contra el hongo fitopatógeno *Fusarium sp.* con un porcentaje de inhibición de 83,58%, 75,75%, 100% y 74,25% respectivamente. Siendo la fracción C la más efectiva no teniendo diferencia significativa con el control +, lo que se concluye la fracción C posee el mismo efecto que el control positivo.
4. La concentración mínima para la inhibición total de *Fusarium sp.* de las fracciones activas, dándonos para la fracción A 2,6%, B 4,9%, C 1,5% y D 3,8%.
5. En el recuento de conidias; la fracción C, inhibió completamente su formación; la fracción D, tuvo menor producción de conidias con 1×10^5 conidias/ml con respecto a la fracción A y B que tuvieron $1,60 \times 10^6$ y $4,28 \times 10^6$ respectivamente; la fracción E tuvo una mayor producción de conidias con $1,596 \times 10^7$.

VI. RECOMENDACIONES

- Seguir con la investigación realizando extractos con otros solventes como éter de petróleo, acuoso o metanólico de las distintas partes de la especie en estudio y comprobar su efectividad de los mismos.
- Realizar ensayos con otros géneros y especies vegetales contra otros tipos de hongos fitopatógenos de importancia agrícola como *Botrytis sp.*, *Aspergillus sp.*, *Alternaria sp.*, entre otras.
- Efectuar el estudio antifúngico “*in vivo*” en cultivos de plantas, con el fin de determinar su eficacia y toxicidad.
- Identificar, aislar y realizar un estudio estructural de los metabolitos claves responsables de la actividad antifúngica para mejores resultados.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Panamericana de la Salud. Situación de las plantas medicinales en Perú: Informe de reunión del grupo de expertos en plantas medicinales [Internet]. Lima: OPS; 2019 [citado 24 de julio de 2024]. Disponible de: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50479/OPSPER19001_spa.pdf
2. Anaya A, Espinoza F, Reigosa M. Ecología Química y aleopatía: avances y perspectivas [Internet]. 2019 [citado 24 de julio de 2024]. Disponible de: https://www.researchgate.net/profile/Francisco-Espinosa-Garcia/publication/360687955_RA11_Ecologia_Quimica_y_Alelopatia_17X23_CS6_RA11/links/628538c72ceddc53b05e88b6/RA11-Ecologia-Quimica-y-Alelopatia-17X23-CS6-RA11.pdf#page=69
3. Rodríguez M. Biodiversidad de los hongos fitopatógenos del suelo de México. Rev. Zool. Mex [Internet]. 2001 [citado 24 de julio de 2024]:53-78. Disponible de: <https://azm.ojs.inacol.mx/index.php/azm/article/view/1846>
4. Toledo E, Félix C, Vicente T, Augusto A, Félix R, Toledo B, Silva J, Trindade C, Raimundo D, Lemos D. Seaweed Extracts to Control Postharvest Phytopathogenic Fungi in Rocha Pear. J Fungi (Basel) [Internet]. 2023 [citado 24 de julio de 2024];9(2):269. Disponible de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9967800/>
5. *Tecoma fulva* (Cav.) D Don [Internet] [citado 24 de julio de 2024]. Disponible de: https://clasificacionespecies.mma.gob.cl/wp-content/uploads/2021/03/Tecoma_fulva_17RCE_FINAL.pdf
6. Álvarez V. Biocontrol de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* con especies de *Trichoderma* sp. [Tesis de pre grado] Medellín: Universidad Nacional Abierta y a Distancia, 2023 [citado 24 de julio de 2024]. Disponible de: <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/54267/VALENTINAALVAREZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
7. Rodríguez A, Troncoso R, Sánchez A, González D, Ruíz E, Zamora R, Ceceña C, Grimaldo O, Avilés M. Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*) en *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum*. Revista Argentina Microbiología [Internet]. 2015 [citado 24 de junio de 2024];47(1):72-77. Disponible de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S032575411500005X>

8. Alexhya V, Deepan T, Ganapaty S. Phytochemical Screening and Pharmacological Evaluation of *Tecoma Gaudichaudi*. Bull. Pharm. Sci [Internet]. 2022 [citado 24 de julio de 2024];45(2):585-592. Disponible de: https://bpsa.journals.ekb.eg/article_271489_ad2fded366ed95be332f6f6cd115c9ab.pdf
9. Lema K. Estudio histológico de algunas especies nativas de las Familias *Capparaceae*, *Bignoniaceae*, *Burseraceae* y *Primulaceae* del bosque seco Mapasingue Guayaquil - Ecuador. [Tesis de pre grado] Ecuador: Universidad de Guayaquil, 2022 [citado 24 de julio de 2024]. Disponible de: <https://repositorio.ug.edu.ec/server/api/core/bitstreams/f7a27656-5166-49a7-8b73-af5955802f08/content>
10. Mukul A, Basavaraju R. A review on phytochemistry and pharmacological uses of *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth. Science direct [Internet]. 2021 [citado 24 de julio de 2024];265(30). Disponible de: doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113270>
11. Larbie C, Owusu C, Owusu C. Phytochemical and Safety Evaluation of Hydroethanolic Leaf Extract of *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth. Evid Based Complement Alternat Med [Internet]. 2019 [citado 24 de julio de 2024];8. Disponible de: doi: [10.1155/2019/7417624](https://doi.org/10.1155/2019/7417624)
12. Chávez P, Lizárraga V, Quispe S, Vargas M. Evaluation of the antimicrobial and activity of organic extracts of leaves of *Tecoma fulva subsp. Arequipensis* (cahuato). South Florida Journal of Developmen [Internet]. 2023 [citado 24 de julio de 2024];4(6):2593-2604. Disponible de: <https://ojs.southfloridapublishing.com/ojs/index.php/jdev/article/view/3033/2294>
13. Izquierdo D, Laredo V. Cribado fitoquímico y actividad antirradicalaria del extracto etanólico de las hojas de *Tecoma stans* (L.)Juss. ex Kunth (Huaranhuay) [Tesis de Pregrado]. Perú: Universidad María Auxiliadora, 2020 [citado 24 de julio de 2024]. 41 p. Disponible de: <https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/380/CRIBADO%20FITOQU%20Y%20ACTIVIDAD%20ANTIRRADICALARIA%20DEL%20EXTRACTO%20ETANOLICO%20DE%20LAS%20HOJAS%20DE%20Tecoma%20stans%20L.%20Juss.%20ex%20Kunth%20HUARANHUAY.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
14. Tupayachi A. Una Localidad para Tres Especies de Plantas Relictos en el Valle Sagrado de Los Incas. Rev. Q'EUÑA [Internet]. 2016 [citado 24 de junio de 2024]; 7:31-40. Disponible de: <https://revistas.unsaac.edu.pe/index.php/RQ/article/view/459/474>

15. Madera J. A revision of *Tecoma* Juss. (Bignoniaceae) in Bolivia. *Botanical Journal of the Linnean Society* [Internet]. 2008 [citado 26 de julio de 2024]; 156(1):143–172. Disponible de: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2007.00731.x>
16. Gonzalez AM. Indumento, nectario extraflorales y anatomía foliar en *Bignoniáceas* de la Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* [Internet]. 2013 [citado 26 de julio de 2024]; 48(2). Disponible de: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1851-23722013000200005&script=sci_arttext
17. Soncco D, Vargas F. Evaluación del efecto del sistema de riego por goteo solar y el uso de hidrogel hidratado en el crecimiento y supervivencia de *Tecoma fulva sub. Arequipensis* “Cahuato” en el parque ecológico regional Las Rocas de Chilina – Arequipa 2018. [Tesis de pregrado]. Perú: Universidad Católica de Santa María, 2020 [citado 26 de julio de 2024]. 148 p. Disponible de: <https://repositorio.ucsm.edu.pe/items/58d0a600-8f2b-434e-b15b-3b3e6ac32a47>
18. Lilia G. Notas Etnobotánicas de la Familia *Bignoniaceae* en el estado de Tabasco, México. División Académica de Ciencias Biológicas. [Internet]. 2008 [citado 26 de julio de 2024]; 14(26). Disponible de: <https://ri.ujat.mx/bitstream/20.500.12107/2447/1/-882-741-A.pdf>
19. Huayhua M, Moya G. Extracción, purificación Y caracterización fisicoquímica de los compuestos volátiles del *Tecoma fulva* (arequipensis). [Tesis de pregrado]. Perú: Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, 2018 [citado 26 de julio de 2024]. 99 p. Disponible de: <https://repositorio.unsa.edu.pe/server/api/core/bitstreams/38eed0b3-6bd5-49e6-bcbb-43e1eb5eb72e/content>
20. Montes R. Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de Micología* [Internet]. 2009 [citado 26 de julio de 2024]; 29:73-82. Disponible de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=88316057010>
21. Pérez B, Mendoza A. Morfología vegetal neotropical. *Rev. Biol. Trop.* [Internet]. 2002 [citado 26 de julio de 2024]; 50(3-4):893-902. Disponible de: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0034-77442002000300010
22. Troiani H, Prina A, Muiño W, Tamame M, Beinticinco L. Botánica, morfología, taxonomía y fitogeografía [Internet]. 1ª ed. Argentina: Editorial de la Universidad Nacional de la Pampa; 2017 [citado 26 de julio de 2024]. 321 p. Disponible de:

<https://repo.unlpam.edu.ar/bitstream/handle/unlpam/110/lb-trobot017.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

23. Sem ayto de Sevilla, 2021 [citado 26 de julio de 2024]. Disponible de: <https://semaytodesevilla.es/wp-content/uploads/2021/06/07-OFICIAL-1%C2%AA-JARDINERO-TEMARIOS.pdf>
24. Alonso J. Manual de Histología Vegetal [Internet]. 1ª ed. Madrid – México: Mundi – Prensa; 2011 [citado 26 de julio de 2024]. 326 p. Disponible de: https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=URwHpBfK_68C&oi=fnd&pg=PR2&dq=histolog%C3%ADa+vegetal&ots=SXLdIn-V6a&sig=rGHw5hu3K3Qqe4-JLWRep5VpBoM&redir_esc=y#v=onepage&q=histolog%C3%ADa%20vegetal&f=false
25. Santamarina P, Roselló J. Anatomía y Morfología de las plantas superiores [Internet]. 2ª ed. España: Univesitat Politècnica de València; 2018 [citado 26 de julio de 2024]. 144 p. Disponible de: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/98111/IPP-Santamarina?sequence=2>
26. Bonillas M, Aguirre A, Agudelo O. Histología Vegetal [Internet]. 1ª ed. Villavicencio: Editorial Unillanos; 2019 [citado 26 de julio de 2024]. 132 p. Disponible de: <https://editorial.unillanos.edu.co/index.php/editorial-unillanos/catalog/view/23/25/117>
27. Ramírez B, Goyes R. Botánica: Generalidades, morfología y anatomía de las plantas superiores [Internet]. 1ª ed. Colombia: Universidad del Cauca; 2004 [citado 26 de julio de 2024]. 167 p. Disponible de: https://www.researchgate.net/publication/305566736_Botanica_Generalidades_Morfologia_y_Anatomia_de_plantas_superiores
28. Megías M, Molist P, Pombal MA. Atlas de histología vegetal y animal. 2023 [citado 16 de julio de 2024]. Disponible de: <https://mmegias.webs.uvigo.es/cita-celula.php>
29. Verde M, González S, Rivas C. Metodología científica para el estudio de plantas medicinales. Investigación en plantas de importancia médica [Internet]. 2016 [citado 26 de julio de 2024]; 1-40. Disponible de: <http://dx.doi.org/10.3926/oms.335>
30. Ávalos A, Urria E. Metabolismo secundario de plantas. Reduca. Serie Fisiología Vegetal [Internet]. 2009 [citado 28 de julio de 2024]; 2(3):119-145. Disponible de: <https://revistareduca.es/index.php/biologia/article/viewFile/798/814>

31. Srivastava S, Kadooka C, Uchida J. *Fusarium* species as pathogen on orchids. *Microbiological Research* [Internet]. 2018 [citado 28 de julio de 2024]; 207: 188-195. Disponible de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501317307218?via%3Dihub>
32. Arie T. *Fusarium* diseases of cultivated plants, control, diagnosis, and molecular and genetic studies. *J Pestic Sci* [Internet]. 2019 [citado 28 de julio de 2024];44(4):275-281. Disponible de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31777447/>
33. Arbeláez G. Algunos aspectos de los hongos del género *Fusarium* y de la especie *Fusarium oxysporum* [Internet]. 2000 [citada 28 de julio de 2024]. Disponible de: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/21538>
34. Cardona Luisa Fernanda, Castaño J. Comparación de métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen, causante del marchitamiento vascular del tomate. *Rev. acad. colomb. cienc. exact. fis. nat.* [Internet]. 2019 [citado 28 de julio de 2024];43(167):227-233. Disponible de: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.854>
35. Hudson O, Fulton J, Dong A, Dufault N, Ali M. *Fusarium oxysporum f. sp. niveum* Molecular Diagnostics Past, Present and Future. *Int J Mol Sci.* [Internet]. 2021 [citado 29 de julio de 2024];22(18):9735. Disponible de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8468614/>
36. Agrios. Ciclo de la enfermedad de *Fusarium oxysporum f.sp lycoperseci*. [Internet]. 2005 [citado 24 de julio de 2024]. Disponible de: <https://www.pinterest.com/pin/722053752743453509/>
37. Garcés E, Orozco M, Bautista G, Valencia H. *Fusarium oxysporum* el hongo que nos falta conocer. *Acta Biológica Colombiana.* [Internet]. 2001 [citado 29 de julio de 2024];6(1):7-25. Disponible de: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/63462/pdf>
38. Cabrera J. Obtención de extractos vegetales con actividad biocontroladora ante hongos fitopatógenos. [Tesis de pregrado]. Ecuador: Universidad del Azuay, 2009 [citado 29 de julio de 2024].55p. Disponible de: <https://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/575>
39. Arias J. *Diseño y Metodología de la Investigación* [Internet] 1^{era} ed. Perú: Enfoques Consulting EIRL; 2021 [citado 29 de julio de 2024]. 134p. Disponible de: https://gc.scalahed.com/recursos/files/r161r/w26022w/Arias_S2.pdf

40. Vielka M. Efecto antibacteriano y antifúngico in vitro del extracto etanólico de *Nasturtium officinale* (berro) sobre *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans*. [Tesis de Pregrado]. Perú: Universidad Privada Atenor Orrego, 2020 [citado 29 de julio de 2024]. 61p. Disponible de: https://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12759/7289/REP_VIELKA.MART%c3%8dNEZ_C%c3%81NDIDA.ALBICANS.pdf?sequence=1&isAllowed=y
41. Organización Mundial de la Salud. Directrices de la OMS: Buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales. [Internet]. Ginebra; 2003 [citado 29 de julio de 2024]. Disponible de: <https://bvs.minsa.gob.pe/local%20MINS/1391.pdf>
42. Surco F, García JA, Bendejú M, Laos D, Panay J, Valle M, Palomino J, Yarasca P, Loja B, Alvarado A. In vitro antioxidant properties and antimicrobial activity of the ethanolic extract of *Senecio nutans* Sch. Beep. (*Asteraceae*). J Pharm Pharmacogn [Internet]. 2022 [citado 29 de julio de 2024];10(6):1026–1036. Disponible de: https://doi.org/10.56499/jppres22.1471_10.6.1026
43. Alarcón J. Estudio fitoquímico y evaluación de la actividad antioxidante del extracto etanólico de Hojas de la especie *Tristerix chodatianus* (*Patschovsky*) *Kuijt* “Pupa”. [Tesis Pregrado]. Perú: Universidad Nacional San Luis Gonzaga, 2021 [citado 29 de julio de 2024]. 97p. Disponible de: <https://repositorio.unica.edu.pe/server/api/core/bitstreams/382bd0ee-9380-4d84-983a-a0f895074d77/content>
44. Isolina G. Determinación de metabolitos secundarios en la corteza de *Maytenus macrocarpa* (*ruiz & pav.*) *briq.* (*chuchuhuasi*) y cuantificación de flavonoides totales. [Tesis de Pregrado]. Perú: Universidad Católica Los Ángeles Chimbote, 2021 [citado 26 de febrero de 2024]. 57p. Disponible de: https://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13032/25475/FLAVONOIDES_MAYTENUS_MACROCARPA_CHUCHUHUASI_GARCIA_CASTANEDA_ISOLINA_MEDHALIT.pdf?sequence=1&isAllowed=y
45. Cunalata N. Caracterización morfológica de pasto Saboya (*Panicum máximum* *Jacq.*), en el cantón Babahoyo. [Tesis de Pregrado]. Ecuador: Universidad Técnica de Babahoyo, 2019 [citado 29 de julio de 2023]. 50p. Disponible de: <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/6138/TE-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000191.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
46. Suárez S, Di Palma A, Cardozo P, Travaglia C. Técnicas de histología vegetal: un abordaje para su utilización en microscopía óptica. 1ª ed. Argentina: UniRío; 2022 [citado 29 de julio

- de 2023] 109p. Disponible de: <https://www.unirioeditora.com.ar/wp-content/uploads/2022/11/978-987-688-506-5.pdf>
47. Aquiahuatl M, Volke T, Prado L, Shiari K, Ramírez F, Salazar. Manuela de prácticas de laboratorio: Microbiología general [Internet]. 1ª ed. México: Universidad Autónoma Metropolitana; 2012 [citado 27 de agosto de 2024]. Disponible de: http://publicacionescbs.izt.uam.mx/DOCS/MMICROBIO_GENERAL.pdf
48. Pincay A., Noboa M., Viera W., Herrera K., León A, Jackson, T. Evaluación *in vitro* del potencial antagonista de *Trichoderma sp.* y hongos endófitos de mora (*Rubus glaucus Benth*) para el control de *Botrytis cinerea*. Journal of Science and Research [Internet] 2021 [citado 27 de agosto 2024];6(1):109–124. Disponible de: <https://revistas.utb.edu.ec/index.php/sr/article/view/895>
49. García V. Aislamiento de (*Fusarium oxysporum F.*) de zonas productoras de tomate (*Solanum lycopersicul L.*) del guayas y su biocontrol con un antagonista a nivel de laboratorio. [Tesis de pregrado]. Ecuador: Universidad Agraria del Ecuador, 2022 [citado 28 de agosto de 2024]. 80p. Disponible de: https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/GARCIA%20ALCIVAR%20VERONICA%20MERCEDES_compressed.pdf
50. Bustamante K, Custode A, Herrera S, Jaramillo E, Berrezueta S. Potencial antifúngico de extractos de plantas y aceites esenciales contra *Fusarium incarnatum*. Pol. Con [Internet] 2023 [citado 09 de septiembre de 2024];8(10):534-551. Disponible de: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9205920>
51. Arce C, Varela I, Torres S. Inhibición del crecimiento micelial de hongos asociados a antracnosis en ñame (*Dioscorea alata*). Agron. Mesoam [Internet]. 2019 [citado 09 de septiembre de 2024];30(2):381-393. Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S1659-13212019000200381&script=sci_abstract&tlng=es
52. Gnedi M, Hussien R, Sleem R, Elkelish A, AlHarbi M, Alharbi B, Sayed A. *In vitro* efficacy of *Boswellia carterii* resin extracts formulated as an emulsifiable concentrate against *Tetranychus urticae* and phytopathogenic fungi. Saudi J Biol Sci. [Internet]. 2023 [citado 09 de septiembre 2024];30(12):103843. Disponible de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10651685/>

53. Tenorio N. Efecto de tres extractos vegetales (cola de caballo, diente de león y ruda) para la inhibición del crecimiento de *Fusarium oxysporum*. [Tesis de Grado]. Ecuador: Universidad San Francisco de Quito USFQ, 2020 [citado 09 de septiembre 2024]. Disponible en: <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/9261/1/133629.pdf>
54. Guillén M. Identificación de los principales hongos asociados a la caída prematura de la fruta en cítricos y evaluación de cuatro fungicidas para su manejo en una finca productora de naranja ubicada en Brasilia, Alajuela, Costa Rica. [Tesis Doctorado]. Costa Rica: Instituto Tecnológico de Costa Rica, 2023 [citado 09 de septiembre de 2024]. Disponible de: https://repositoriotec.tec.ac.cr/bitstream/handle/2238/14425/TFSC1627_BIB310523_TFG_DOCINADE_Guill%c3%a9n-Carvajal.%20Mar%c3%ada%20Jos%c3%a9_2023.pdf?sequence=1&isAllowed=y
55. Salas A, Espinoza C, Castillo R, Ascacio J, Rodríguez R, Segura M, Neri E, Estrada D, Osorio E. Antifungal In Vitro Activity of *Phoradendron sp.* Plants (Basel) [Internet]. 2023 [citado 09 de septiembre de 2024];12(3):672. Disponible de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9921527/>
56. Seminario J. Determinación de metabolitos secundarios en *Perezia pinnatifida* (Bonpl.) Wedd. y su caracterización morfohistológica. [Tesis de pregrado]. Perú: Universidad Mayor de San Marcos, 2017 [citado 14 de septiembre de 2024]. 93 p. Disponible de: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/item/6f7f3889-60a7-4291-b448-e2e3c02490b7>
57. Gonzales A. Indumento, Nectarios Extraflorales Y anatomía Foliar En *Bignoniáceas* De La Argentina. Boletín De La Sociedad Argentina De Botánica [Internet]. 2013 [citado 17 de septiembre de 2024]; 48 (2): 221-45. Disponible de: <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v48.n2.6207>.
58. Da Conquista V. Anatomia dos Orgãos Vegetativos de *Alpinia Zerumbet* (Pers.) B. L. Burt & Smith (Zingiberaceae), *Pyrostegia Venusta* (Ker. Gawl) Miers (Bignoniaceae) E *Solidago Chilensis* Meyen (Asteraceae). [Tesis de pregrado]. Brasil: Universidad de Federal Da Bahía Campus Anísio Teixeira, 2016 [citado 17 de septiembre de 2024]. 113p. Disponible de: <https://repositorio.ufba.br/bitstream/ri/19359/1/TCC%20FINAL%20DE%20CURSO%20FI%c3%a1via.pdf>
59. Navas N, Jarrín P. Potencial biofungicida del extracto orgánico de *Commelina diffusa* contra *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal de la sigatoka negra en el cultivo de banano. [Tesis de pregrado]. Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana sede Guayaquil, 2024 [citado 26

de septiembre de 2024]. 94p. Disponible de:
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/28761/1/UPS-GT005610.pdf>

60. Ramírez C, Pérez S, Ramírez E, Salcedo E. Efecto antifúngico y estudio químico de *Eysenhardtia polystachya* (Fabaceae) sobre *Phaneroquete cryosporum* y *Ganoderma lucidium*. Rev. Mex. Cienc. Agrí [Internet]. 2023 [citado 26 de septiembre de 2024];14(8). Disponible de: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342023000800003&script=sci_arttext
61. Moraba M, Ladislao K, Jacobus N. Los extractos de hojas, fracciones y compuestos aislados de *Tecoma stans* (Bignoniaceae) tienen una actividad prometedora contra los fitopatógenos fúngicos. Suid-Afrikaanse Tydskrif vir Natuurwetenskap en Tegnologie [Internet]. 2017 [citado 26 de septiembre de 2024];36(1). Disponible de: <https://journals.co.za/doi/abs/10.4102/satnt.v36i1.1489>
62. Perez c, Rojas S, Chamorro A, Perez P. Evaluación de la actividad antifúngica de *Melia azederach* sobre aislados de *Colletotrichum spp*. Rev. Colombiana cienc. Anim [Internet]. 2011 [citado 27 de septiembre de 2024];3(2):309-320. Disponible de: <https://revistas.unisucre.edu.co/index.php/recia/article/view/400>
63. Sánchez G, Vargas A, Jiménez P. Evaluación de la actividad antifúngica de extractos etanólicos de dos morfotipos de *Raphanir raphanistrum L.* sobre tres hongos fitopatógenos. Bioagro [internet]. 2015 [citado 28 de septiembre de 2024];27(1):2-10. Disponible de: https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612015000100001
64. Reyes C, Martínez D, Morales P, Sobal M, Escudero A, Ávila J. Efecto del extracto de ruda (*Ruta graveolens*) en el crecimiento micelial de *Trichoderma*. Rev. Mex. Cienc. Agríc. [internet]. 2014 [citado 28 de septiembre de 2024];5(8):1433-1446. Disponible de: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342014P000800008

VIII. ANEXOS

ANEXO N°1

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

“AÑO DEL BICENTENARIO, DE LA CONSOLIDACIÓN DE NUESTRA INDEPENDENCIA, Y DE LA CONMEMORACIÓN DE LAS HEROICAS BATALLAS DE JUNÍN Y AYACUCHO”

El Blgo. Que suscribe determina que, la muestra biológica presentada por el bachiller en Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional “San Luis Gonzaga” **SILVIA ALEJANDRA MEDINA FLORES** con DNI N° 72903646 para su determinación, el cual pertenece al nombre científico de ***Tecoma fulva*** (CAV)G. DON “chuve/cahuato”, según Sistema de Clasificación de Arthur Cronquist, (1988).

REINO: PLANTAE

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

ORDEN: LAMIALES

FAMILIA: BIGNONIACEAE

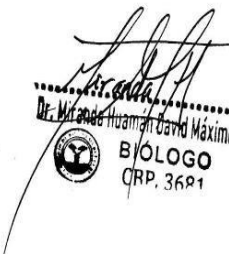
GÉNERO: ***Tecoma***

ESPECIE: ***Tecoma fulva*** (CAV) G.DON

N.V. “chuve/cahuato”

Se emite la presente certificación a solicitud del interesado para fines de estudio.

Ica 27 de febrero 2024


Dr. Miranda Huamán Cayo Máximo
BIÓLOGO
CRP. 3681

ANEXO N°02

Recolección



Selección



Limpieza



Secado



Trituración y Conservación



ANEXO N°3

Extracción por maceración



Extracción por reflujo



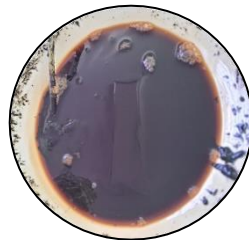
Filtrado de la maceración conjunta



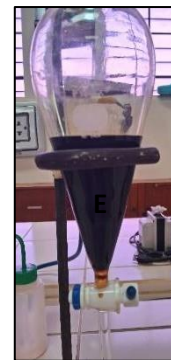
Obtención de Fracciones



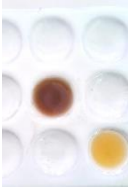

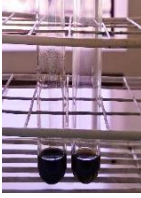

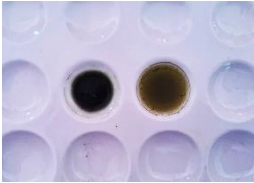


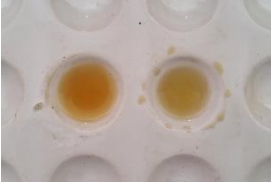


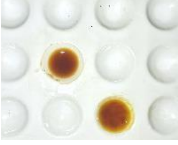
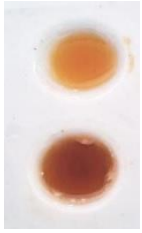

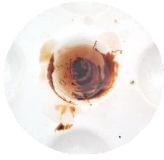
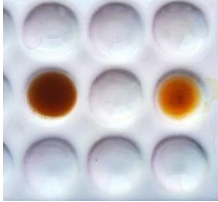
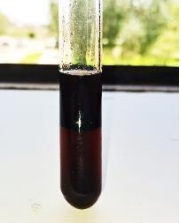
A



B



ANEXO N°4

<p>Fracción A</p>	<p>Rx. Shinoda</p> 	<p>Rx. Gelatina - Sal</p> 	<p>Rx. ClFe3</p> 	<p>Rx. Ninhidrina</p> 	
<p>Fracción B</p>	<p>Rx. Libermann Burchard</p> 		<p>Rx. Kedde</p> 		
<p>Fracción C</p>	<p>Rx. Libermann Burchard</p> 	<p>Rx. Kedde</p> 	<p>Rx. Dragendorff, Mayer y Wagner</p> 		
<p>Fracción D</p>	<p>Rx. Dragendorff, Mayer y Wagner</p> 	<p>Rx. Kedde</p> 	<p>Rx. Shinoda</p> 	<p>Rx. Rosenheim</p> 	<p>Rx. Liberman Burchard</p> 
<p>Fracción E</p>	<p>Flavonoides</p> 		<p>Leucoantocianidinas/ Catequinas</p> 		

ANEXO N°5
Morfología Vegetal



Histología/Histoquímica Vegetal



Cortes Histológicos

Teñido

Pruebas histoquímicas

<p><u>Alcaloides</u></p>	<p><u>Taninos</u></p>	<p><u>Saponinas</u></p>
<p><u>Oxalato de calcio</u></p>	<p><u>Mucílagos</u></p>	<p><u>Celulosa</u></p>

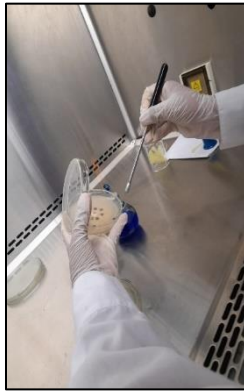
ANEXO N°6

Esterilización de materiales



Preparación de medio de cultivo

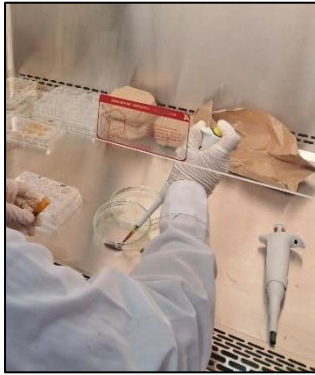
Replicación de células madres de *Fusarium sp.*



Preparación de extractos



ANEXO N°7



Depositar 20 μL del extracto diluido en una placa de Petri.



Añadir 5 mL de medio de cultivo.



Homogenizar con ayuda de la micropipeta.



Depositamos las conidias en agua estéril.



Preparamos el inóculo, removemos las conidias.



Se deposita a los pozos 1000 μL del homogenizado.



Se pone una muestra de la suspensión en la cámara neubauer y se lleva a conteo.



Inoculamos con 45 μL de la suspensión.



Sellamos las placas y se incuban por 5 días.

ANEXO N°8

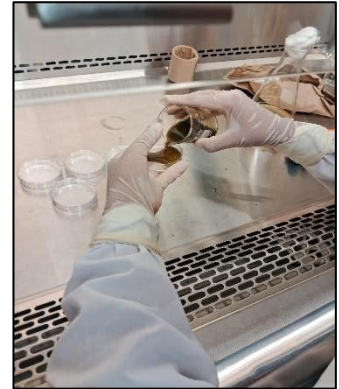
Evaluación cuantitativa



Depositar 1500 μ L del extracto diluido en un vaso pp.



Añadir 25 mL de PDA y homogenizar.



Tomar 5 mL de homogenizado y echar 5 ml en cada mini placa de Petri.



Medimos el crecimiento del hongo en el medio envenenado.



Inoculamos colocando el disco de micelio en el centro de la placa de Petri. Se incuba por 9 días.



Realizamos discos en la cepa de *Fusarium sp.*

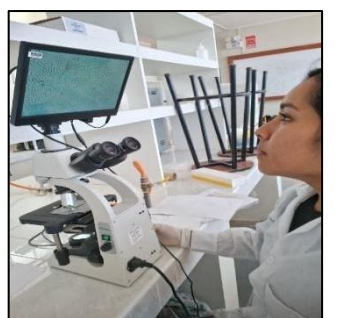
Recuento de conidias



Echar 1 ml de agua estéril y raspar suavemente.



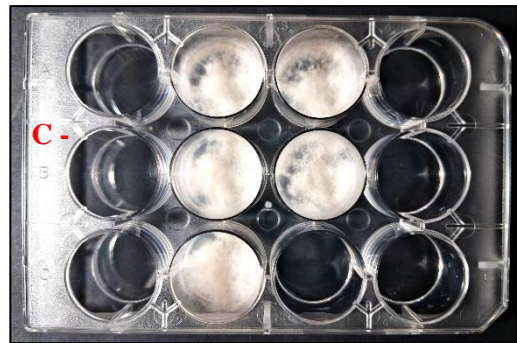
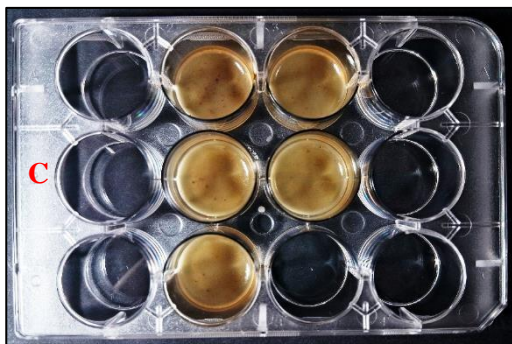
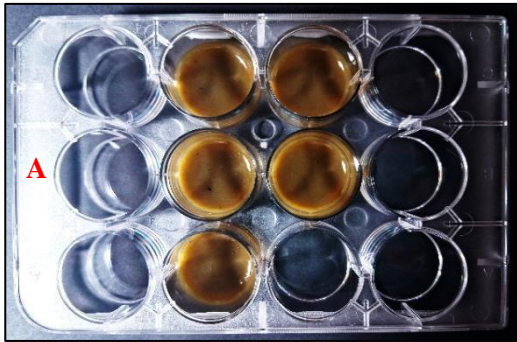
Poner la muestra en la cámara de Neubauer.



Realizar el conteo de conidias.

ANEXO N°9

Actividad Antifúngica de las fracciones a partir del extracto etanólico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON frente a *Fusarium sp.* Evaluación Cualitativa al 3%



ANEXO N°10

Actividad Antifúngica de las fracciones a partir del extracto etanólico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON frente a *Fusarium sp.*

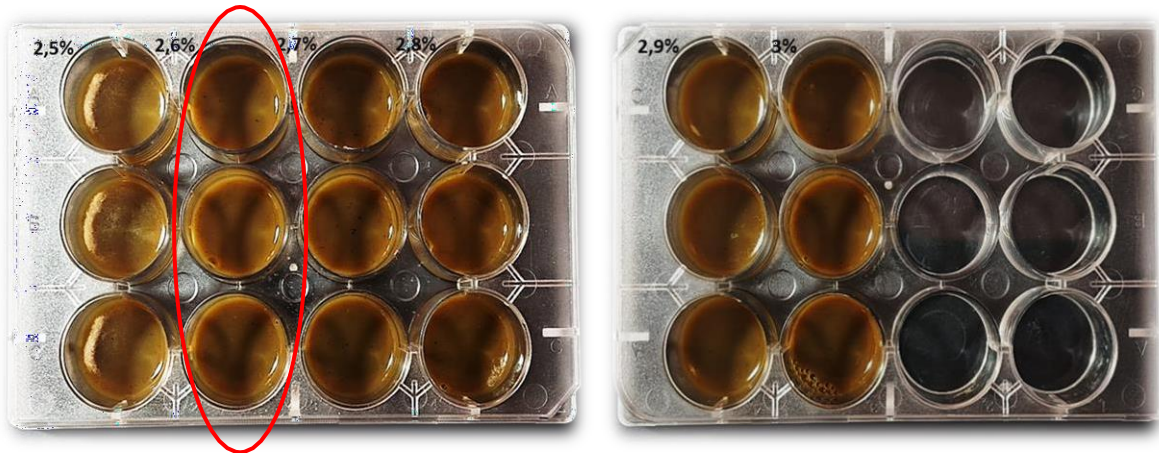
Evaluación Cuantitativa al 3%



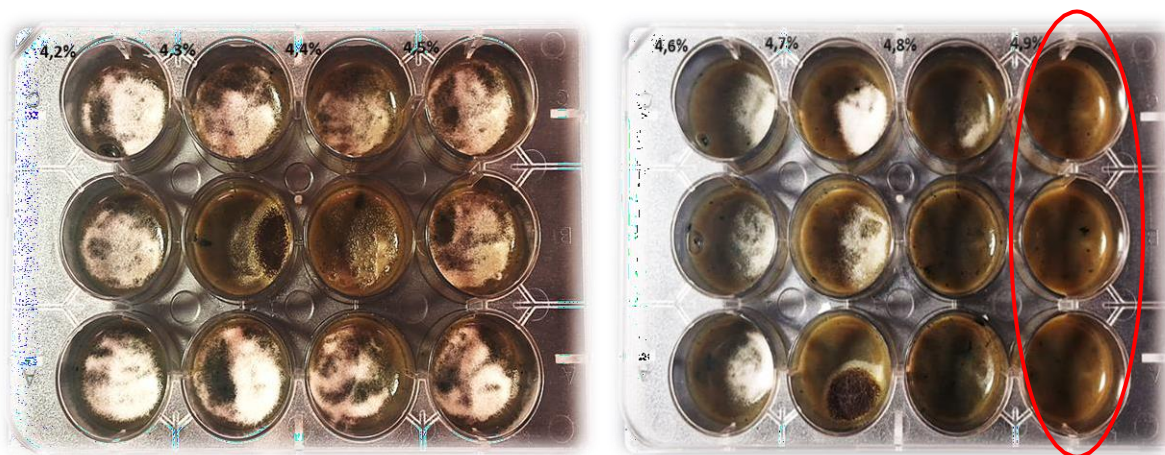
ANEXO N° 11

Ensayos de concentración mínima inhibitoria de cada fracción obtenida del extracto etanólico de las hojas de *Tecoma fulva* (CAV) G.DON

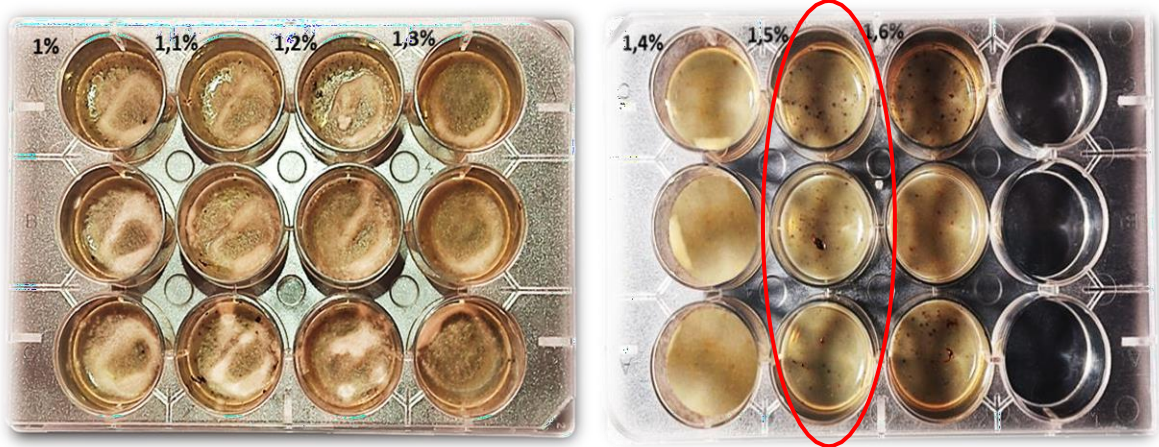
Fracción A



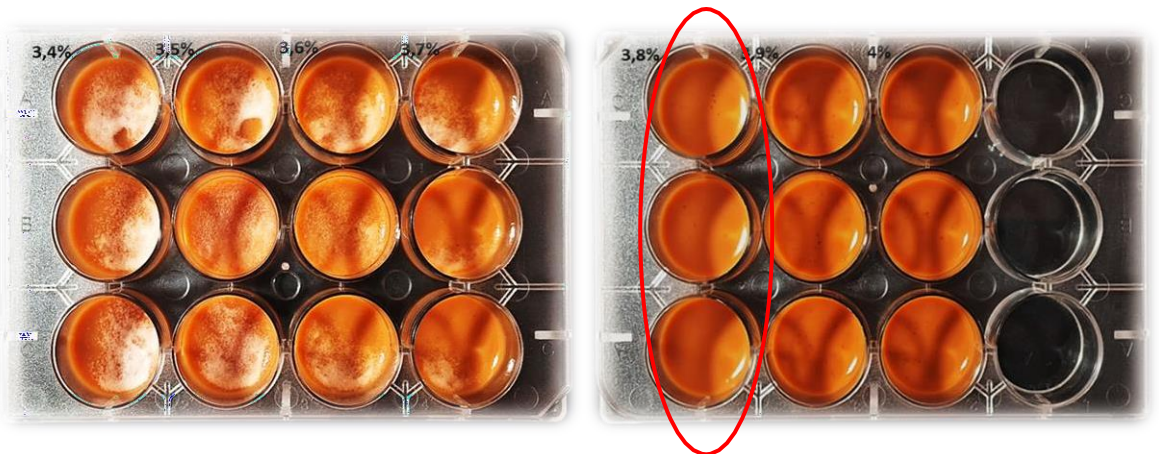
Fracción B



Fracción C



Fracción D



Fracción E

