

# ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE RECURSOS NATURALES ESCUELA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

EFECTO DE TRES RESIDUOS INDUSTRIALES DE QUINUA SOBRE Alternaria sp. y Botrytis fabae EN HABA (Vicia faba).

## TRABAJO DE TITULACIÓN PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PARA TITULACIÓN DE GRADO

### PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE INGENIERO AGRÓNOMO

VÍCTOR MANUEL SÁNCHEZ YUPANGUI

RIOBAMBA-ECUADOR 2019

#### Derechos de Autor. Copyright

©2019, Víctor Manuel Sánchez Yupangui.

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

#### CERTIFICACIÓN

#### ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE RECURSOS NATURALES ESCUELA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de investigación: EFECTO DE TRES RESIDUOS INDUSTRIALES DE QUINUA SOBRE Alternaria sp. y Botrytis fabae EN HABA (Vicia faba), de responsabilidad del señor Víctor Manuel Sánchez Yupangui, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

ING. EDWIN LEONARDO PALLO PAREDES

DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

ING. NORMA SOLEDAD ERAZO SANDOVAL

ASESORA DEL TRIBUNAL

#### RESPONSABILIDAD Y DERECHOS COMPARTIDOS

Yo, Víctor Manuel Sánchez Yupangui, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis y el patrimonio intelectual del Trabajo de Titulación de Grado pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en cooperación con la Fundación Maquita Cushunchic Chimborazo (MCCII).

Victor Sanchez

010518198-6

#### **DEDICATORIA**

A Dios, por darme la vida, por convertir mis problemas en bendiciones, lo inesperado en los mejores regalos y llenarme de ese espíritu de fe y fortaleza en los momentos más difíciles.

A mi mami Erlinda, por ser ese ejemplo de lucha y perseverancia, por brindar tu amor incondicional e infinito para con tus hijos, pero sobre todo por educar y formar en mí un hombre de bien.

A mi papi Luis, por formar en mí valores y enseñarme que en la vida hay que luchar y trabajar por lo que se ama, por demostrar carácter ante las situaciones más adversas, pero sobre todo por sentirte orgulloso de nosotros tus hijos.

A ustedes hermanos Jorge, Jonathan, Julia y José, por creer en mí siempre y saber que podemos contar el uno al otro toda la vida, por su amistad, por sus consejos y amor.

A Katherine y su familia, por permitirme formar parte de su hogar y vivir momentos trascendentales e inolvidables en todo este tiempo transcurrido. Katherine a pesar de todo, gran parte de este gran logro se lo debo a usted.

Y especialmente a ese ser que llegó a mi vida y me enseñó la sencillez y el verdadero amor en las más pequeñas cosas, a ti hijo mío por entregarme tu afecto y cariño que son los detonantes de mi felicidad y fortaleza, de mis ganas de buscar los mejor para ti. Eres mi dicha y mayor motivación para salir adelante. Emiliano te Amo con todo mi ser.

Víctor Manuel Sánchez Yupangui

#### **AGRADECIMIENTO**

La vida se encuentra plagada de retos y uno de ellos es la Universidad. Tras verme dentro de ella, me he dado cuenta que más allá de ser un reto, es una base no solo para mi entendimiento del campo en el que me he visto inmerso, sino para lo que concierne a la vida y mi futuro.

Por ello agradezco a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, en especial a la Escuela de Ingeniería Agronómica, quién me acogió en sus aulas y fue un pilar importante en mi formación humana y profesional.

A la Fundación Maquita Cushunchic Chimborazo (MCCH) por el financiamiento brindado para que se realice esta investigación.

Al Ing. Edwin Pallo quien como director supo guiar y motivarme en la consecución exitosa de este trabajo.

A la Ing. Norma Erazo por contribuir y brindar todas las facilidades para culminación del mismo.

Al Ing. Juan Manzano por su guía en este trabajo.

A esos grandes amigos y amigas que se fortalecieron con el pasar de los años.

Víctor Manuel Sánchez Yupangui

#### TABLA DE CONTENIDOS

Derec	chos de Autor. Copyright	i
CER	ΓΙFICACIÓN;Eri	ror! Marcador no definido.
RESP	PONSABILIDAD Y DERECHOS COMPARTIDOS;Err	ror! Marcador no definido.
DEDI	ICATORIA	iv
AGR	ADECIMIENTO	v
ÍNDI	CE DE TABLAS	viii
ÍNDI	CE DE FIGURAS	ix
LIST	A DE ANEXOS	x
LIST	A DE ABREVIATURAS	xii
	EFECTO DE TRES RESIDUOS INDUSTRIALES DE QU	
	Botrytis fabae EN HABA (Vicia faba)	
II.	INTRODUCCIÓN.	
A.	IMPORTANCIA	
В. С.	PROBLEMAJUSTIFICACIÓN	
III.	OBJETIVOS.	
A.	GENERAL.	
В.	ESPECÍFICOS.	
IV.	HIPÓTESIS	
A.	HIPÓTESIS NULA	
В.	HIPÓTESIS ALTERNATIVA	
C.	OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	
<b>V.</b>	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	
A.	CULTIVO DE HABA (Vicia faba)	5
В.	MANCHA CONCÉNTRICA- MANCHA NEGRA (Alter	
C.	MANCHA CHOCOLATE. (Botrytis fabae)	* '
D.	QUINUA (Chenopodium quinoa).	15
VI.	MATERIALES Y MÉTODOS.	19
A.	CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR	19
В.	MATERIALES Y EQUIPOS	19
C.	MÉTODOS.	20
D.	CARACTERÍSTICA EXPERIMENTAL	23
E.	TRATAMIENTOS EN ESTUDIO	24
F.	DISEÑO EXPERIMENTAL.	24

G.	VARIABLES EN ESTUDIO	25
VII.	RESULTADOS	27
VIII.	CONCLUSIONES	37
IX.	RECOMENDACIONES	38
Χ.	RESUMEN	;Error! Marcador no definido.
XI.	SUMMARY	;Error! Marcador no definido.
VIII.	BIBLIOGRAFÍA	41
IX.	ANEXOS.	46

#### ÍNDICE DE TABLAS

<b>N</b> °	DESCRIPCIÓN	PÁG.
Tabla	a 1. Clasificación taxonómica de la planta de haba	5
Tabla	a 2. Clasificación taxonómica del hongo Alternaria sp	9
	a 3. Clasificación taxonómica del hongo Botrytis fabae	
Tabla	<b>a 4.</b> Estructuras de saponinas identificadas en quinua (Chenopodium quinoa)	17
Tabla	a 5. Tratamientos en estudio	24
Tabla	<b>a 6.</b> Análisis de varianza (ADEVA)	24
Tabla	<b>a 7.</b> Diagrama de Severidad del cultivo	26
Tabla	<b>a 8.</b> Análisis de la varianza para % de Inhibición Micelial en Alternaria sp	27
Tabla	<b>a 9.</b> Análisis de la varianza para la tasa de crecimiento micelial en Alternaria sp	28
	a 10. Análisis de la varianza para % de Inhibición Micelial en Botrytis fabae	
Tabla	a 11. Análisis de la varianza para la tasa de crecimiento micelial en Botrytis fabae	31
Tabla	a 12. Análisis de la Varianza para severidad de Alternaria sp., sobre tejido vegetal	!34
Tabla	a 13. Análisis de la Varianza para severidad de Botrytis fabae sobre tejido vegetal.	35

#### ÍNDICE DE FIGURAS

N°	DESCRIPCIÓN	PÁG.
Figui	ra 1. Estado fenológico del haba	7
Figu	ra 2. Ciclo de desarrollo del hongo (Alternaria sp.)	11
_	ra 3. Ciclo de desarrollo del hongo (Botrytis fabae).	
_	ra 4. Porcentaje de Inhibición micelial para Alternaria sp en medio de cultivo	
sintét	tico	27
Figu	ra 5. Tasa de crecimiento micelial para Alternaria sp en medio de cultivo sint	ético. 29
Figur sintét	ra 6. Porcentaje de Inhibición micelial para Botrytis fabae en medio de cultivo	= >
	ra 7. Tasa de crecimiento micelial para <i>Botrytis fabae</i> en medio de cultivo	
sintét	- · · · · ·	31
Figu	ra 8. Características morfológicas de la colonia- Alternaria sp	32
_	ra 9. Características morfológicas de la colonia- Botrytis fabae	
0	ra 10. Porcentaje de severidad con <i>Alternaria</i> sp., sobre tejido vegetal	
0	ra 11. Porcentaje de severidad con <i>Botrytis fabae</i> sobre tejido vegetal	

#### LISTA DE ANEXOS

N°	DESCRIPCIÓN PÁG.
Anexo	1. Contenido de humedad y fibra del proceso industrial de escarificado de la quinua46 2. Análisis Físico-Químico de agua residual después del lavado-salida de la centrífuga
	3. Composición química de la quinua según diferentes autores
	4. Contenido de aminoácidos en el grano andino (g. amino ácido/16 g N) (13)48
	5. Contenido de minerales en la quinua.
	6. Contenido de vitaminas en la quinua
	7. a) Recolección de muestras en campo. b) Aislamiento de los hongos fitopatógenos. c)
	icación del patógeno. d) Botrytis fabae-40 X. e) Alternaria sp40 X49
	8. Tasa decrecimiento e inhibición micelial del hongo <i>Botrytis fabae</i> en medio sintético a
	horas de establecido el ensayo, con la formulación del PDA más los residuos del lavado
	do por el proceso de escarificación al 25%, 50% y 75%50
	9. Tasa de crecimiento e inhibición micelial del hongo <i>Botrytis fabae</i> en medio sintético a
	horas de establecido el ensayo, con la formulación del PDA más residuos del lavado
	do del polvo por el proceso de escarificación al 25%, 50% y 75%51
	10. Tasa de crecimiento e inhibición micelial del hongo <i>Botrytis fabae</i> en medio sintético
	6 horas de establecido el ensayo, con la formulación del PDA más residuos obtenidos por
el proc	reso de lavado de la semilla al 25%, 50% y 75%52
_	11. Tasa de crecimiento e inhibición micelial del hongo Alternaria sp., en medio sintético
a las 2	88 horas de establecido el ensayo, con la formulación del PDA más los residuos del lavado
obteni	do por el proceso de escarificación al 25%, 50% y 75%
Anexo	12. Tasa de crecimiento e inhibición micelial del hongo Alternaria sp. en medio sintético
a las 2	88 horas de establecido el ensayo, con la formulación del PDA más residuos del lavado
obteni	do del polvo por el proceso de escarificación al 25%, 50% y 75%54
Anexo	13. Tasa de crecimiento e inhibición micelial del hongo Alternaria sp., en medio sintético
a las 2	88 horas de establecido el ensayo, con la formulación del PDA más residuos obtenidos por
el proc	eso de lavado de la semilla al 25%, 50% y 75%55
Anexo	14. Conteo del número de esporas en la Cámara de Neubauer. a) Botrytis fabae. 107
	s b) Alternaria sp. 108 esporas56
Anexo	15. Preparación de una suspensión conocida de esporas 1x10 <sup>5</sup> conidios/ml, e inoculación
de 10	ul de dicha suspensión con la micropipeta en hojas sanas de Vicia faba56
	<b>16.</b> Morfología y crecimiento de las colonias para <i>Botrytis fabae</i> y <i>Alternaria</i> sp57
Anexo	17. Escala de colores utilizados para la identificación del color de la colonia del hongo. a)
-	is fabae. b) Alternaria sp57
	<b>18.</b> Morfología y crecimiento de la colonia <i>Botrytis fabae</i> . a) Forma circular. b) Elevación
_	c) Margen ondulado. d) Color blanco algodonoso
	19. Morfología y crecimiento de la colonia Alternaria sp. a) Forma circular. b) Forma
_	ar. c) Elevación Umbonada. d) Margen ondulado. e) Color verde salvia
	<b>20.</b> Comparación de la severidad con <i>Botrytis fabae</i> en la hoja de Vicia faba inmersa en la
	ón de los residuos del lavado obtenido por el proceso de escarificación al 25%, 50% y 75%
	21. Comparación de la severidad con <i>Botrytis fabae</i> en la hoja de Vicia faba inmersa en la
	ón de los residuos del lavado obtenido del polvo por el proceso de escarificación al 25%,
50% v	75% 60

nexo 22. Comparación de la severidad con Botrytis fabae en la hoja de Vicia faba inmersa en la
lución de los residuos obtenidos por el proceso de lavado de la semilla al 25%, 50% y 75%. 61
nexo 23. Comparación de la severidad con Alternaria sp. en la hoja de Vicia faba inmersa en la
lución de los residuos del lavado obtenido por el proceso de escarificación al 25%, 50% y 75%.
62
nexo 24. Comparación de la severidad con Alternaria sp. en la hoja de Vicia faba inmersa en la
lución de los residuos del lavado obtenido del polvo por el proceso de escarificación al 25%,
0% y 75%63
nexo 25. Comparación de la severidad con Alternaria sp. en la hoja de Vicia faba inmersa en la
lución de los residuos obtenidos por el proceso de lavado de la semilla al 25%, 50% y 75%. 64

#### LISTA DE ABREVIATURAS

t: Tonelada.
Ha: Hectárea.
μm: Micrómetros.
μ: Micras.

Grados Celsius.
 mm: Milímetros.
 mp: Megapíxeles.
 g: Gramos.
 ml: Mililitros.
 μL: Microlitros.

**NaClO:** Hipoclorito de sodio.

 $\mathbf{H_2O_d}$ : Agua destilada.

MCCH: Maquita Cushunchic Chimborazo.

**PDA:** Agar Papa Dextrosa.

dc: Diámetro del micelio del control.dt: Diámetro del micelio del tratamiento.

**T:** Tratamiento.

DCA: Diseño Completo al Azar.ADEVA: Análisis de varianza.ns: No significativo.

\*\*: Altamente significativo.

RLPE: Residuo del lavado obtenido del proceso de escarificación.

**RLPPE:** Residuo del lavado obtenido del polvo por el proceso de escarificación.

**RPLS:** Residuo obtenido del proceso de lavado de la semilla.

### I. <u>EFECTO DE TRES RESIDUOS INDUSTRIALES DE QUINUA SOBRE Alternaria sp.</u> y Botrytis fabae EN HABA (Vicia faba).

#### II. <u>INTRODUCCIÓN.</u>

El cultivo de haba (*Vicia faba*) en Ecuador tiene gran importancia nutricional y económica principalmente en la zona Andina ya que de sus vainas se pueden obtener semillas que pueden consumirse en grano fresco o seco; la producción nacional de haba tierna durante el año 2015 fue de 26,297 toneladas (haba tierna), con un comportamiento similar el haba seca, obteniendo así 2.31 t.ha<sup>-1</sup> de haba tierna y 0.59 t.ha<sup>-1</sup> de haba seca. (SINAGAP, 2015).

A pesar de la importancia nutricional y económica que genera este cultivo, la superficie sembrada ha ido disminuyendo, siendo uno de los principales responsables la presencia de plagas y enfermedades que atacan severamente a este cultivo.

En el cultivo del haba se presentan generalmente enfermedades de origen fungoso, y que pueden afectar hasta en un 80% la producción de grano de haba; por lo que es muy importante saber el comportamiento de estas. Según (Coca, 2009), las enfermedades más conocidas del haba a nivel mundial son las que afectan al área foliar, tal es el caso de la mancha chocolate (*Botrytis fabae*) y la mancha concéntrica (*Alternaria* sp).

La utilización de plaguicidas de manera indiscriminada en el control de estas enfermedades causa daños al ambiente y a la salud humana. El uso de nuevas alternativas biodegradables que involucran el uso de extractos, tés y macerados a base de plantas vegetales, y otras partes de las mismas como es el caso de los residuos industriales de la quinua obtenidos a partir de la escarificación y lavado.

Se conoce que dentro de los residuos industriales de la quinua existen gran cantidad de saponinas, siendo el principal factor anti nutricional de las semillas de quinua, estas están contenidas en la cáscara y son las responsables del sabor amargo. Existe gran cantidad de propiedades biológicas reportadas y asociadas a estos compuestos, entre las que se sobresalen su capacidad antitumoral, su actividad hemolítica, antinflamatoria y principalmente su actividad antifúngica.

#### A. IMPORTANCIA.

El cultivo de haba es uno de las leguminosas más importantes en los sistemas de producción de la sierra ecuatoriana y ocupa un lugar importante en la población urbana y rural debido a su alto contenido de proteínas, pero es así que desafortunadamente, la pérdida de cultivares se debe principalmente al conjunto de plagas y enfermedades.

Uno de los principales métodos para el control de plagas y enfermedades en el cultivo de haba ha sido el control químico, causando grandes problemas de contaminación ambiental, afectando negativamente a la biodiversidad y a la salud humana; esto debido al uso inadecuado de los agroquímicos por parte de los agricultores. Se hace necesario buscar nuevas alternativas para obtener una producción más amigable tanto con el productor y el consumidor.

#### B. PROBLEMA.

Hoy en día conociendo la importancia y el incremento de la producción del cultivo de *Vicia faba* en el Ecuador y que éste es afectado principalmente por la alta incidencia de enfermedades como *Alternaria* sp. y *Botrytis fabae*, ocasionando el uso indiscriminado de pesticidas, provocando un deterioro en la calidad del producto final, por ende, en el ambiente.

Este uso exagerado de agroquímicos en los cultivos en la actualidad acarrea grandes problemas de contaminación, esto debido a que los agricultores no disponen de nuevas alternativas biodegradables para el manejo de las enfermedades en mención, que estén a favor del ambiente y la salud humana.

#### C. JUSTIFICACIÓN.

Para evitar el uso indiscriminado de pesticidas en los cultivos, disminuir la contaminación del ambiente y la salud humana se pretende generar nuevas alternativas para el control de *Alternaria* sp. y *Botrytis fabae* con productos biodegradables, debido a que existen grandes cantidades de residuos industriales como el de la quinua que no tienen un uso, potencialmente podrían presentar características que permitan reducir la incidencia de las principales enfermedades presente durante el cultivo.

Dentro de las alternativas biodegradables para el control de estas enfermedades que producen manchas foliares, se propone la utilización de lavados a partir de restos provenientes de los residuos industriales de la quinua (*Chenopodium quinoa*). Se conoce que los residuos tienen grandes cantidades de saponinas y que estos son glucósidos triterpénicos capaces de tener una acción antifúngica. (Ahumada, Ortega, & Chito, 2016).

Esto explica la importancia de realizar el estudio con los residuos industriales de la quinua principalmente en desarrollar un sustituto de agroquímicos utilizados actualmente. (López, 2006). Los residuos industriales de la quinua, no cuentan con estudios específicos de cómo y en que concentraciones actúan contra las enfermedades *Alternaria* sp. y *Botrytis fabae* presentes en el haba, por lo que esta investigación contribuirá a determinar si tienen o no un efecto biofungicida ante estas enfermedades.

#### III. <u>OBJETIVOS.</u>

#### A. GENERAL.

Evaluar el efecto tres residuos industriales de la quinua sobre *Alternaria* sp. y *Botrytis fabae* en haba (*Vicia faba*).

#### B. ESPECÍFICOS.

- Evaluar el efecto de tres concentraciones de tres residuos industriales de la quinua en medio de cultivo.
- Evaluar el efecto de tres concentraciones de tres residuos industriales de la quinua sobre tejido vegetal inoculado.

#### IV. HIPÓTESIS

#### A. HIPÓTESIS NULA.

Los tres residuos industriales de la quinua no ejercen efecto sobre *Alternaria* sp. y *Botrytis fabae.*, en condiciones in vitro y en tejido vegetal inoculado.

#### B. HIPÓTESIS ALTERNATIVA.

Al menos un residuo industrial de la quinua ejerce efecto sobre *Alternaria* sp. y *Botrytis fabae.*, en condiciones in vitro y en tejido vegetal inoculado.

#### C. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.

#### 1. Variable Dependiente.

- a. Porcentaje de afectación.
- b. Incidencia y severidad en tejido vegetal inoculado.

#### 2. Variable Independiente.

- a. Residuos industriales.
- b. Concentraciones de los residuos.

#### V. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

#### A. CULTIVO DE HABA (Vicia faba).

#### 1. Importancia.

El cultivo del haba tiene gran importancia económica tanto en verde (vaina) como en grano seco; ocupa el cuarto lugar a nivel mundial entre las leguminosas de grano, la misma es muy apetecida por sus cualidades alimentarías y nutritivas; posee 25 % de proteínas, 25 % de grasas y 3500 calorías por cada kilo, lo que la hace cumplir un rol fundamental en la dieta del hombre. (Delgado, 2017).

La producción nacional de haba tierna durante el año 2015, presentó una resta importante respecto al año 2014, pasando de 26,297 toneladas a 16,318 toneladas. El mayor volumen de producción se registró en el año 2014 (26,297 t), mientras que el año 2003 fue el menor volumen de producción (8,080 t) registrado.

Respecto a la producción de haba seca, presentó un comportamiento similar al observado con el haba tierna. En el año 2015 se observó una disminución del 45% con relación al 2014. La producción a lo largo del periodo no presenta variaciones relevantes, el mayor nivel producido corresponde al año 2011 con 6,401 toneladas. (SINAGAP, 2015)

La mayor producción del cultivo de haba tierna se concentró en las provincias de Cotopaxi, Carchi y Chimborazo, en tanto que de haba seca en las provincias de Azuay, Carchi y Cañar. (SINAGAP, 2015)

#### 2. Taxonomía.

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la planta de haba.

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Rosidae
Orden:	Fabales
Familia:	Fabaceae
Subfamilia:	Faboideae
Tribu:	Fabeae
Género:	Vicia
Especie:	Vicia faba

Nota: (Infoagro, 2017)

#### 3. <u>Descripción botánica.</u>

Las habas son plantas anuales de consistencia herbácea, llegando a alcanzar hasta 1,5 m de alto. Su sistema radical es pivotante y las raíces laterales son bien desarrolladas, su sistema radicular tiene la capacidad de fijar el nitrógeno gracias a la presencia de nódulos. (JICA, 2006)

Según JICA (2006), los tallos son fuertes, tetragonales, huecos y sin vellosidades, la ramificación de estos tallos suele ser escasa y la misma dependerá del cultivar, la densidad de la siembra, la fertilidad del suelo y las condiciones ecológicas. Según su ahijamiento de la planta varía el número de ramas.

Las hojas son compuestas, paripinadas, con dos a cuatro pares de folíolos y sin zarcillos; tienen color verde, algo grisáceo y estípulas provistas de nectarios. Ocasionalmente son anchas, elípticas o lineales, enteras o dentadas en el ápice y desprovistas de pubescencia. (Box, 2016)

Las inflorescencias para (Box, 2016) están agrupadas en racimos axilares con número variable de flores, de color blanco, con manchas oscuras en las alas y rayas de color pardo en el estandarte; se agrupan en racimo cortos de 2 a 12 flores. (JICA, 2006)

El fruto es una vaina o legumbre alargada y su número varía de uno a cuatro por nudo, estando dispuestos de forma muy diversa según las variedades, desde erguidos hasta colgantes; tienen un color verde intenso cuando están en estado no maduro y que en la madurez se convierten en negros, volviéndose coriáceos, negros y pubescentes. Estas legumbres están tapizadas interiormente de un tejido aterciopelado característico.

El número de semillas según (Box, 2016) por vaina es muy variable, pero por término medio es de cinco a ocho y la misma dependerá según la variedad botánica a la que pertenece. Las semillas son de tamaño grande, más o menos aplastadas y de forma oval. La mayor longitud puede alcanzar hasta cuatro centímetros en algunas variedades y menos de uno en las habas caballares. Son de color amarillo rosado cuando hace poco se las ha recogido y conforme pasa el tiempo toman tonos parduzcos.

#### 4. Fenología.

Las fases fenológicas de *Vicia faba* son: emergencia, desarrollo de la hoja, formación de tallos laterales, elongación del tallo, emergencia de la inflorescencia, floración, desarrollo de los frutos, maduración y senescencia. (López, 2017).

Waaijenber & Caro (2000), menciona que la duración del ciclo del cultivo dependerá de la zona en donde se encuentran; es así que los cultivares de los valles por lo general son plantas pequeñas con un ciclo corto entre 4-5 mese y con 2-5 granos por vaina, mientras los de las alturas tienen un ciclo de 5-8 meses con 1-3 granos por vaina y por lo general son plantas grandes.

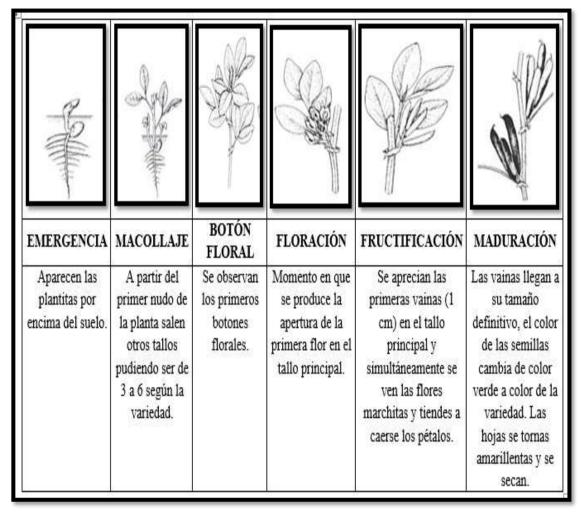


Figura 1. Estado fenológico del haba. Nota: (López, 2017)

#### 5. Manejo del cultivo.

a. Suelos y preparación del terreno.

El cultivo puede desarrollarse en varios tipos de suelos: franco arenoso, franco arcilloso, negro andino, que sean profundos, con buena cantidad de materia orgánica y con un pH alrededor de 7. Se debe realizar una arada y rastrada para romper el ciclo de algunas plagas y enfermedades. Previo a la siembra, el suelo debe estar mullido y el surcado puede hacerse con máquina. (INIAP, 1993)

#### b. Labores culturales.

- 1) Siembra: Realizar surcos distanciados entre 0.80 m y depositar las semillas cada 0.30 m colocando 2 a 3 semillas por golpe.
- Fertilización: El cultivo de haba es exigente en nutrientes, se recomienda aplicar 20-80-40 de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y K<sub>2</sub>O al momento de la siembra.
- 3) Control de malezas: El método más recomendable es el manual, realizar en los estados iniciales de desarrollo de la planta.
- 4) Aporque: Realizar antes de la floración para evitar la caída de flores.

- Riego: Tomar en cuenta las etapas críticas como el macollamiento, floración, formación de vainas y llenado de grano. (INIAF, 2006)
- c. Cosecha.
- 1) En grano verde: 150 160 días después de la siembra.
- 2) En grano seco: 180 210 días.
- d. Rendimiento.

En verde el rendimiento oscila entre 12 – 20 Ton/ha y en seco de 2 – 4 Ton/ ha.

e. Almacenamiento.

El almacenado debe realizarse en una ambiente seco, ventilado, oscuro y limpio; se debe evitar la humedad del piso y paredes tomando en consideración que la humedad no debe ser superior al 13 %. (INIAF, 2006)

#### 6. Plagas y enfermedades.

- a. Plagas.
- 1) Pulgones o áfidos
- 2) Mosca minadora (Liriomiza sp.)
- 3) Trips sp.
- b. Control de plagas.

Realizar una buena rotación de cultivos, así como una oportuna y buena preparación del terreno. En daños severos realizar los controles en etapas iniciales del desarrollo del cultivo, empleando los insecticidas correspondientes, según el tipo de alimentación del insecto (insecticidas sistémicos). (INIAF, 2006)

- c. Enfermedades.
- 1) Mancha chocolate (Botrytis fabae)
- 2) Mancha concéntrica (Alternaria sp.)
- 3) Pudrición de vaina (Antracnosis sp.)
- 4) Mancha foliar (Cercospora fabae)
- 5) Pudriciones de raíz (Rizoctonia y Fusarium)
- 6) Roya (Puccinia sp.)
- d. Control de enfermedades.

Evitar la presencia de malezas, también hay que considerar los distanciamientos entre surcos y plantas recomendados y realizar un control químico con el uso de fungicidas específicos para cada enfermedad. (INIAF, 2006)

#### B. MANCHA CONCÉNTRICA- MANCHA NEGRA (Alternaria sp).

#### 1. Importancia.

Alternaria sp., es uno de los patógenos más importantes del área foliar a nivel mundial, algunas especies patógenas invaden cultivos vegetales antes y después de la recolección y es responsable de considerables pérdidas económicas reduciendo los rendimientos y produciendo alteración de los vegetales en su almacenamiento. "Las especies del género Alternaría sintetizan más de 70 metabolitos secundarios tóxicos para las plantas (fitotoxinas)". (Pavón, Gonzáles, & García, 2012).

#### 2. Taxonomía.

Tabla 2. Clasificación taxonómica del hongo Alternaria sp.

Fungi		
Ascomycota		
Pezizomycotina		
Dothideomycetes		
Pleosporales		
Pleosporaceae		
Alternaria		
Especies: alternata, brassicae, brassicicola		

Nota: (Rivas, 2014)

#### 3. Etiología.

El hongo *Alternaria* sp., llamada también mancha concéntrica o mancha negra desarrolla un micelio color blanquecino sobre las lesiones y es ahí donde se desarrollan los conidios del hongo. Dichos conidios son de color marrón oscuro, muestran un pico ligeramente alargado. (Coca, 2004).

#### 4. Descripción y morfología.

Los conidios se disponen en cadenas ramificadas, éstas se originan cerca del ápice del conidióforo primario, tomando en cuenta que los conidióforos secundarios están ausentes frecuentemente. Está compuesto de cadenas con 5 a 7 conidios elipsoides, obclavados u ovoides de 11-53 x 7-15 µm, con 2-6 septos transversales y 0-3 septos longitudinales. El color de las colonias tiende hacer de oscuras verdes o grises, de 45 mm de diámetro, frecuentemente con varios anillos concéntricos. (Rodriguez, Cárdenas, & Jiménez, 2013)

#### 5. Sintomatología.

Rivas (2014), manifiesta que la planta de haba presenta manchas con forma circular alternadamente, la misma que se extiende a los bordes de la hoja provocando su defoliación de la parte alta hacia abajo y finalmente provocando la muerte. Esta enfermedad se desarrolla en condiciones climáticas de altas precipitaciones.

El hongo provoca lesiones en forma circular y de tono castaño oscuro, sus márgenes concéntricos y un halo que le rodea de tejido pálido y cadenas de conidios que contienen las lesiones; comienza por las hojas bajas, llegando posteriormente a las más altas y vainas. (Carrero, 2008).

#### 6. Ciclo del hongo.

El hongo puede sobrevivir en el suelo, en residuos de cultivos infestados y malezas, son dispersados por el viento, insectos, lluvia, trabajadores y maquinaria agrícola. Sobreviven asociados a restos de vegetales enfermos o malezas.

- a. En la etapa de sobrevivencia del hongo todos son parásitos obligados (Briofitos) y la infección micelial es superficial desarrollando haustorios en los tejidos epidermales. Algunas veces matan a sus huéspedes utilizando nutrientes disminuyendo su fotosíntesis, así también aumentan su respiración disminuyendo su desarrollo y productividad. Sobreviven como saprótrofos en restos de plantas enfermas. Cuando los conidios quedan expuestos a temperaturas bajas (3 °C) se pueden formar clamidosporas y microesclerocios, estructuras con gran capacidad de persistencia en condiciones adversas. (INIA, 2017)
- b. En la etapa de gemación del hongo existe la potencialidad de que cada gema infecte y produzca lesiones en hojas nuevas en presencia de agua y temperaturas entre los 18 °C. Si las gemas son depositadas en tallo jóvenes y hojas débiles en pocas horas se inicia la germinación de las mimas con la aparición del hongo sobre el tejido de la planta. (INIA, 2017)
- c. La fructificación de nuevas lesiones o inóculo secundario ocurre en condiciones climáticas adecuadas donde el patógeno dispersa la infección a toda la planta. (INIA, 2017)
- d. El final del ciclo de la enfermedad e inóculo residual termina cuando terminan las épocas lluviosas, disminuyendo la temperatura y aumentando la aireación en el área foliar. En épocas de invierno el patógeno permanece en los restos de cosecha, es así que cuando vuelve a aparecer lo hace en plantas débiles y con poca presencia de abono nitrogenado. (INIA, 2017).

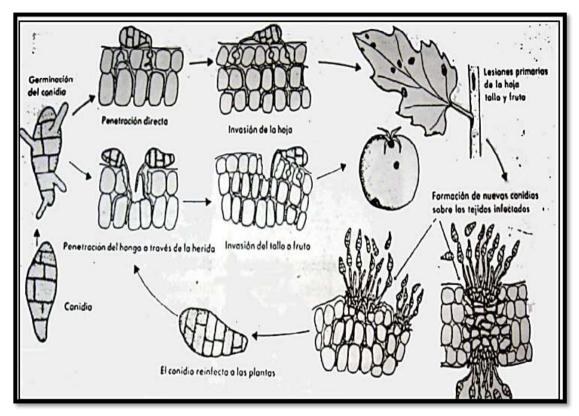


Figura 2. Ciclo de desarrollo del hongo (Alternaria sp.) Nota: (Agrios, 2004).

#### 7. Control químico.

La resistencia a los fungicidas y su manejo es de una gran importancia a todo lo concerniente con la protección de los cultivos. Sin un manejo efectivo eficiente la resistencia se desarrolla rápidamente. (Espinal, Huanca, Terrazas, & Giménez, 2010), dice que para controlar esta enfermedad se pueden utilizar diferentes ingredientes activos como: Axoxystrobin, Didofluanid, Difenoconazol, Fluodioxonil+cipronidil, Iprodione, Mancozeb, Myclobutanil, Oxicloruro de cobre+Mancozeb, Proximidona, Tebuconazole.

#### 8. Control biológico.

Miranda, Cruz, & Calyecac (2015), menciona que se realizaron colectas de *Orchesella bifasciata* en hojas de *Jatropha curcas* infestadas con hongos como *Alternaria Alternata*; estos hongos presentes en las hojas de *J. curcas* se aislaron, se purificaron y posteriormente se realizaron pruebas de preferencia alimenticia de *O. bifasciata* hacia los hongos aislados. Concluyendo que existe un efecto antifúngico contra *Alternaria alternata*.

Vargas, (2009), hace referencia a que se ha logrado un control biológico con extractos vegetales en contra de *Alternaria tagetica*, utilizando el extracto de la raíz de *Croton chichenensis* y *Acalypha gaumeri* obteniendo buenos resultados, así también con menor espectro fungicida los extractos de *Trichilia minutiflora*, el tallo y raíz de *Ambrosia hispida* y la hoja de *Vitex gaumeri*.

La versatilidad, adaptabilidad y fácil manipulación de los hongos del género *Trichoderma*., ha permitido su uso en el control biológico de *Alternaria* sp. (Vargas, 2009)

#### C. MANCHA CHOCOLATE. (Botrytis fabae)

#### 1. Importancia.

Existen enfermedades fitopatógenas que limitan la producción, tal es el caso de *Botrytis fabae*, hongo característico en la patogenia del haba que produce la Mancha Chocolate. Este patógeno puede reducir hasta dos tercios los rendimientos del cultivo. (Espinal, Huanca, Terrazas, & Giménez, 2010).

Según Coca (2009), *Botrytis fabae* es una de las enfermedades más conocidas e importantes principalmente por los daños económicos que esta enfermedad causa.

Quiton, (2000), menciona que la producción de haba es un cultivo tradicional de la serranía y destaca que la mancha chocolate es una enfermedad limitante, debido a que reduce la capacidad fotosintética y por consecuencia disminuye el rendimiento en un 20% a 80%.

#### 2. Taxonomía.

Tabla 3. Clasificación taxonómica del hongo Botrytis fabae.

Reino:	Fungi
Filo:	Ascomycota
Clase:	Leotiomycetes
Orden:	Helotiales
Familia:	Sclerotinicaeae
Género:	Botrytis
Especie:	Botrytis fabae

Nota: (Rodriguez, 1929)

#### 3. Etiología.

Botrytis fabae es causante de la enfermedad más conocida como mancha chocolate, produciendo un abundante micelio gris, conidióforos largos y ramificados que portan racimos de conidios ovoides, unicelulares, hialinas, produciéndose a menudo esclerotios de color negro. (IICA, 1990).

#### 4. Descripción y morfología.

a. Micelio cespitulos formando una capa compacta, de color castaño claro, más tarde blanquecinos; nunca tupido y gris como en el grupo cinerea. Micelio en el interior de la matriz, hialino al principio, después castaño más o menos obscuro, pluriarticulado (células de 12-70 μ de longitud), con hifas de 4,9-15,1 μ de diámetro. Las ramas conidióforas surgen por los estomas y a medida que se van desarrollando los conidióforos, va constituyéndose un estroma de color castaño obscuro sobre el que quedan implantados los sucesivos aparatos conidióforos. (Soria, 2015)

- b. Conidióforos de 162-231 μ de longitud, pardo-obscuros en la base y que palidecen hacia arriba, hasta ser hialinos en sus últimas ramificaciones, de contenido finamente granuloso (sólo en algunas regiones, tanto de las partes castañas como de las hialinas, es como espumoso); erguidos, unos ensanchados en la base en forma cónica, más o menos globosa, y otros no, con 1-3 tabiques en su tronco principal y 3-4 ramas primarias de 1-3 tabiques, que o no se ramifican o rara vez lo hacen en dos ramas terminales; las terminaciones de estas ramas últimas se hallan algo dilatadas en forma esférica o ligeramente piriforme, y en ellas están insertos los conidios, mediante cortos esterigmas; las cabezuelas de conidios que se forman alrededor de estas últimas ramificaciones tienen de 38-63 μ de diámetro. (Soria, 2015)
- c. Conidios ovoideos, a veces algo irregulares y frecuentemente con la cicatriz de inserción del esterigma bien marcada; en grandes masas presentan un color castaño claro. (Soria, 2015)
- d. Los esclerocios tienen la función de supervivencia del hongo, soportan temperaturas bajas en la estación invernal gracias a su compacta morfología y alta acumulación de sustancias nutritivas, todo esto para germinar en la primavera dando lugar a un nuevo micelio. También intervienen en el ciclo sexual del hongo, ya que estos participan como gameto femenino, y a partir de los cuales se desarrollan los apotecios. Y, además, poseen una enorme capacidad para producir conidióforos. (Soria, 2015)
- e. Los apotecios son cuerpos reproductivos que surgen individualmente o en grupo de los esclerocios que han sido fecundados. Su morfología consta de un pequeño tallo o estípete (de 2 a 20 mm de longitud y 0.5-1.5 mm de grosor) y una región ensanchada a modo de embudo denominada himenio o tecio. (Soria, 2015)
- f. Los estípetes están formadas por hifas septadas situadas longitudinal y paralelamente entre sí. En el tecio o región fértil se encuentran las ascas dispuestas regularmente y en distintos estadíos de desarrollo. Las ascas son hifas fértiles con forma cilíndrica y alargadas que contienen en su interior un total de ocho ascosporas. Además de las ascas se presentan unas hifas estériles ramificadas en la base del tecio llamadas paráfisis. (Soria, 2015)
- g. Las ascosporas tienen una morfología elipsoidal con tamaños que van entre los 9-17.6 μm para la sección longitudinal y de 4-9.3 μm para la sección transversal y su interior contiene un variable y elevado número de núcleos. (Soria, 2015)

#### 5. Sintomatología.

Coca, (2004), hace mención que el hongo produce la enfermedad desde la emergencia hasta la fase de maduración del cultivo.

El desarrollo del hongo se presenta mediante una fase no agresiva o también denominado fase de desarrollo inicial, donde las hojas presentan manchas de color chocolate, posteriormente alcanzando a los tallos, flores y vainas; y la fase agresiva se presenta con manchas necrosadas formando felpa de color gris en la floración y en la formación y maduración de las vainas. Existe

defoliación de las hojas y flores, las vainas verdes se necrosan desde la punta hacia la base y los granos secos presentan manchas de color marrón sobre el tegumento. (Coca, 2004)

Los principales síntomas que provoca esta enfermedad se observan en las hojas, con moteado color chocolate; es así que se reducirá la capacidad de fotosíntesis y por ende llevará a la pérdida de la cosecha o muerte total de las plantas. (Guitiérrez, 2008)

#### 6. Ciclo del hongo.

La enfermedad se desarrolla rápidamente bajo condiciones de humedad y temperaturas comprendidas entre 15 y 22°C. El ciclo de vida de *Botrytis fabae* inicia con la germinación de esclerocios, los mismos que han permanecido en plantas hospederas y restos de cultivos. Los esclerocios producen micelio el cual esporulan y originan conidias y estas a su vez son transportadas por el viento o por otros vectores.

La infección del hospedero inicia con la germinación de las conidias, desarrollando un micelio superficial e invadiendo tejidos susceptibles; cuando existen condiciones adecuadas el hongo produce gran número de conidias y abundante micelio, pudiendo causar infecciones posteriores y propagación del patógeno a otras plantas. En cambio, cuando existen condiciones desfavorables el patógeno produce esclerocios que son estructuras de resistencia para sobrevivir durante los períodos adversos.

Es así que al momento de que nuevamente existan las condiciones adecuadas *Botrytis fabae* reanuda el crecimiento del micelio o germinan los esclerocios, reiniciándose el ciclo. (Agrios, 2004)

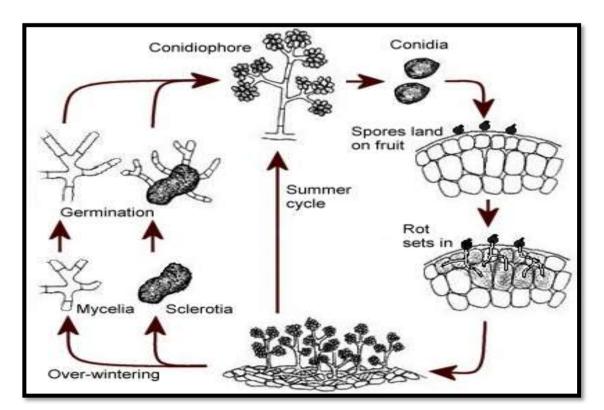


Figura 3. Ciclo de desarrollo del hongo (Botrytis fabae). Nota: (Mamani, 2007).

#### 7. Control químico.

El uso de controles químicos de manera irresponsable la mayoría de veces aumenta la incidencia de la enfermedad reduciendo la población o efectividad de los antagonistas. Por tal motivo es importante buscar la posibilidad de integrar alternativas de control que permitan que las condiciones se vuelvan adversas al patógeno y por consiguiente al desarrollo de la enfermedad. (Leach & Garber, 1970).

Para controlar esta enfermedad se pueden utilizar diferentes tipos de tratamientos mediante agroquímicos como: Mancozeb, Folpet, Selix. Benomyl, etc, que son usados frecuentemente. (Espinal, Huanca, Terrazas, & Giménez, 2010).

#### 8. Control biológico.

La necesidad de contar con productos que proporcionen un control efectivo, pero a la vez no tóxico para la salud y el medio ambiente hay que contar con nuevas alternativas, las mismas que nacen de la utilización de microorganismo tales como bacterias y hongos.

Condori, León, & Zapana, (2016), hace referencia que de la rizosfera del haba se aisló 17 hongos antagónicos nativos, los cuales se logró identificar hongos de los géneros Trichoderma y Clonostachys. Las cepas TRCH-12 tienen un efecto de 54,6% comparado con la TRCH-11 de 3,62 % en la inhibición micelial. Así mismo, 14 cepas pertenecientes al género Trichoderma y una cepa de Clonostachys son micoparasitos agresivos en contra de *Botrytis fabae*.

También existen diversos hongos como: *Trichoderma* spp., *Trichoderma inhamatum.*, *Coniothyrium* spp., *Gliocladium p., Mucor* spp., *Penicillium* spp., *Verticilium* spp., bacterias y nematodos como antagonistas de *Botrytis* sp. (Infoagro, 2017).

#### D. QUINUA (Chenopodium quinoa).

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) es una planta de la familia *Chenopodiaceae* y era llamado por los incas "la madre del grano". Es una planta andina, anual dicotiledónea y de alrededor de 1-2 m de altura; además tiene un alto valor nutricional, proteico y con fuentes potenciales de compuestos bioactivos tales como polifenoles y fibra dietética. (Repo, 2014)

A pesar de que se han aislado más de 20 saponinas de diferentes partes de la quinoa (flores, frutos y granos) y se identificaron sus agliconas y respectivos azúcares, la mayor cantidad de saponinas se encuentra en el epispermo del grano, por lo que son abundantes en los residuos (mojuelo) que se desechan en el proceso de beneficiado, a través del cual se separa la cascarilla del grano por fricción (escarificado), actividad que se realiza a la quinua para consumo y exportación. Estudios han demostrado que el uso de saponinas tiene actividad antifúngica. (Rinel & Hugh, 2016)

#### 1. Residuos industriales.

Durante el proceso industrial de la quinua, el producto pasa por varias etapas, entre éstas existen dos en las que se extraen una gran cantidad de residuos. La primera, la escarificación, o también llamado lavado seco, es aquí donde se extrae una gran cantidad de material particulado y otro en polvo, que esencialmente presenta altos contenidos de saponinas. El segundo proceso, el lavado,

o también llamado lavado en húmedo, donde se extrae una gran cantidad de vertido del cual se conoce que en su composición existe gran cantidad de saponinas. (Gaibor, 2018)

#### 2. Concentraciones.

Para obtener concentraciones que sean eficientes se recomienda realizar extracciones a nivel de laboratorio utilizando un porcentaje de residuos de quinua en agua de 20%, porque a mayor concentración la muestra es muy espesa dificultando la filtración lo que se traduce en menor cantidad de extracto final. (Ladies Industriales, 2011)

Para un máximo aprovechamiento lavar los residuos sólidos descartados en la etapa de filtración, si bien con dos lavados posteriores a la extracción se logra el 50,4% de recuperación de sólidos, el segundo lavado no siempre se justifica porque requiere invertir tiempo y recursos para obtener un 6,9 % de recuperación adicional, por esto se recomienda un lavado posterior a la extracción lo que significa recuperar el 43,5% de los sólidos. (Ladies Industriales, 2011)

#### 3. Saponinas y sus derivados.

#### a. Definición.

Son fitoquímicos y su nombre proviene del latín sapo ("jabón"), debido a su capacidad de formar espuma estable en una solución acuosa. Las saponinas afectan las cualidades organolépticas por su sabor amargo. (Troisi, Fiore, & Pulvento, 2014)

#### b. Saponinas de la quinua.

Las saponinas constituyen el principal factor antinutricional de la quinua. Las semillas que contienen más del 0,11% son variedades amargas y las que tienen menos contenido son variedades dulces (Ahumada et al., 2016). Estos fitoquímicos se han encontrado en diversas partes de la quinua (semillas y cáscara, flores y frutos) (Troisi et al, 2014). Se han identificado 8 agliconas y en total 31 tipos de saponinas en la planta de la quinua (Ahumada et al, 2016).

La quinua tiene saponinas, unas sustancias de sabor amargo ubicadas en el epispermo del grano, que deben ser eliminadas antes del consumo humano. Para su eliminación, las empresas exportadoras de quinua, han desarrollado un proceso de beneficiado donde se separa el epispermo del grano mediante dos procesos: (Lozano, 2012)

El primero es basado en la fricción entre granos por acción mecánica (escarificado) obteniéndose un polvo rico en saponinas denominado "mojuelo". El segundo es un proceso de lavado con agua para eliminar el epispermo restante. El rendimiento del "mojuelo" es de alrededor de 4,5 % respecto al grano, por lo que cada año se generan toneladas de estos residuos. (Lozano, 2012).

#### c. Derivados.

Las moléculas de las saponinas se encuentran clasificas por su estructura, como glucósidos esteroidales o triterpénicos, se caracterizan por las propiedades semejantes a las del jabón: cada molécula está constituida por una parte lipofílica (esteroidal o terpenica) y otra hidrofílica (glicosidos). (Tenorio, Terrazas, Alvarez, & Villa, 2010)

Chenopodium quinoa es una especie rica en saponinas triterpénicas contenidas, en las hojas, flores, y especialmente en la cáscara de las semillas; en la actualidad se han identificado alrededor de 30 saponinas derivadas de la hederagenina y de los ácidos oleanólico, fitolacagénico y serjanico en la planta. (Ahumada, Ortega, & Chito, 2016)

Tabla 4. Estructuras de saponinas identificadas en quinua (Chenopodium quinoa).

Compuesto	Localización	Aglicona	Sustituyente
1	Fl, F, S, C	i	3-Glc-(1→2)-Ara, 28-Glc
2	S	i	3-GlcA
3	Fl, F, S, C	i	3-GlcA, 28-Glc
4	Fl, F, S, C	i	3-Glc-(1→2)-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
5	Fl, F, S, C	i	3-Xyl-(1→3)-GlcA, 28-Glc
6	S	ii	3-Xyl-(1→3)-GlcA, 28-Glc
7	Fl, F, S, C	ii	3-Ara
8	Fl, F, S, C	ii	3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
9	S	ii	3-Glc-(1→4)- Glc-(1→4)-Glc, 28-Glc
10	Fl, F, S, C	ii	3-GlcA, 28-Glc
11	S	ii	3-Gal-(1→3)- Glc, 28-Glc
12	Fl, F, S, C	ii	3-Glc-(1→3)- Gal, 28-Glc
13	Fl, F, S, C	iii	3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
14	Fl, F, S, C	iv	3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
15	Fl, F, S, C	V	3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
16	S	vi	3-Glc-(1→2)- Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
17	S	vi	3-Ara-(1→3)-GlcA, 28-Glc
18	S	vii	3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
19	Fl, F, S, C	vii	3-Glc-(1→2)- Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
20	S	vii	3-Ara-(1→3)-GlcA, 28-Glc
21	Fl, F, S, C	vii	3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
22	Fl, F, S, C	vii	3-Ara, 28-Glc
23	Fl, F, S, C	vii	3-GlcA, 28-Glc
24	Fl, F, S, C	viii	3-Glc-(1→3)-Gal, 28-Glc
25	Fl, F, S, C	viii	3-Ara, 28-Glc
26	S	viii	3-Ara-(1→3)-GlcA, 28-Glc
27	Fl, F, S, C	viii	3-Glc-(1→4)-Glc-(1→4)-Glc, 28-Glc
28	Fl, F, S, C	viii	3-Glc-(1→2)-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
29	Fl, F, S, C	viii	3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
30	S	viii	3-Glc-(1→3)-Ara
31	S	viii	3-Gal-(1→3)-Glc, 28-Glc

Nota: (Ahumada, Ortega, & Chito, 2016)

#### 4. Propiedades.

Las saponinas se consideran como antinutricionales en los alimentos; sin embargo, estudios recientes mostraron diversas actividades biológicas favorables para la salud, entre las que se encuentran las antibacteriana, antifúngica, disminución del colesterol y anticancerígena, entre otras. (Apaza, 2016).

Apaza, (2016), menciona que las saponinas poseen cualidades biológicas de gran utilidad, se destaca su efecto piscida, insecticida, antiprotozoos, antiinflamatorio, leishmanicida, antitrichomonas, antiagregante plaquetario, broncolítico, hipocolesterolémico y anticancerígeno.

Lozano, (2012), hace referencia a que las saponinas tienen propiedades surfactantes y emulsificantes, tiene interés en la elaboración de detergentes y como espumante en la elaboración de bebidas.

#### 5. Acción fúngica.

Existen referencias buenas acerca de la acción de saponinas sobre los hongos fitopatógenos, como la actividad de saponinas de quinoa (5 mgxml<sup>-1</sup>) que se tratan con álcalis y se aplican sobre *Botrytis cinerea* y eliminan la germinación del 100% de los conidios, lo que sustenta la posible optimización de extractos de saponinas, modificados químicamente para optimar la actividad antifúngica. La capacidad de formar complejos con esteroles, proteínas y fosfolípidos de membranas, representa el principal mecanismo de actividad antifúngica de las saponinas, el cual debe aprovecharse con la finalidad de mejorar la actividad antifúngica frente a fitopatógenos que merman la producción agrícola. (ApazaI, Smeltekop, & Flores, 2016).

Según Guzman (2015) menciona que actualmente su uso se ha diversificado y se aplica experimentalmente en el control de pestes de diferentes cultivos (papa, tomate, haba) por sus propiedades como biocontrolador o bioplaguicida de hongos fitopatógenos, como los de los géneros Aspergillus y Fusarium.

Las saponinas tienen la habilidad de producir ruptura de los eritrocitos, este hecho ha permitido emplear esta característica en la detección y en métodos de cuantificación de saponinas. (Guzman, 2015)

#### VI. MATERIALES Y MÉTODOS.

#### A. CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR.

#### 1. Localización.

La presente investigación se llevó a cabo en el laboratorio del Departamento de Ciencias Biológicas de la Facultad de Recursos Naturales, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ubicada en el cantón Riobamba provincia de Chimborazo.

#### 2. Ubicación geográfica.

Altitud: 2.820 m.s.n.m. Latitud: 1°39'18,82'' S Longitud: 78°40'39.99''

#### 3. Condiciones de laboratorio.

Temperatura promedio (día): 25 °C. Humedad relativa (día): 35 % - 45 %

#### **B. MATERIALES Y EQUIPOS.**

#### 1. Materiales.

- a. Cajas mono Petri desechables.
- b. Portaobjetos y cubreobjetos.
- c. Papel toalla.
- d. Guantes quirúrgicos.
- e. Fosforera.
- f. Tarrinas plásticas.
- g. Cinta.
- h. Marcador permanente.
- i. Papel filtro.
- j. Frascos de vidrio de 500 ml.
- k. Embudos.
- 1. Gas.
- m. Mechero.
- n. Aguja de tuxteno.
- o. Sacabocados.
- p. Micropipeta automática 100 μL.
- q. Goteros.
- r. Piceta
- s. Computador.
- t. Marcadores.
- u. Esferos.
- v. Calculadora.
- w. Grapadora.

- x. Perforadora.
- y. Libreta de campo.

#### 2. Equipos.

- a. Higrotermótetro.
- b. Autoclave.
- c. Microscopio.
- d. Cámara de aislamiento de flujo laminar.
- e. Cámara microscópica digital (10 mp).
- f. Incubadora.
- g. Refrigeradora.

#### 3. Reactivos.

- a. Medio de cultivo-PDA.
- b. Cloranfenicol.
- c. Alcohol industrial.
- d. Agua destilada.
- e. Fungicida.

#### C. MÉTODOS.

#### 1. Metodología.

- a. Fase de Campo.
- Recolección en campo de muestras infestadas con *Alternaria* sp. y *Botrytis fabae* en el cultivo de haba.

La recolección de muestras se realizó a partir de hojas de haba infectadas, provenientes de campos de productores asociados a Maquita Cushunchic Chimborazo (MCCH), donde se evidenció una alta presencia de *Alternaria* sp. y *Botrytis fabae* en el cultivo de haba.

Al recolectar el material en el campo, se tomó en consideración el estado fenológico de la planta al momento de la recolección, la parte de la planta que se va a tomar, el desarrollo de la lesión y las condiciones ambientales en ese momento. Las muestras se recolectaron en tarrinas plásticas y seguidamente se colocaron en fundas herméticamente selladas para ser transportadas; para cada muestra se anotaron los datos de recolección, como localidad, fecha, cultivo, variedad y una descripción de los síntomas. (Gilchrist, 2002)

Para *Alternaria* sp., las muestras recolectadas fueron únicamente las hojas, observando la presencia de anillos concéntricos irregularmente formados sobre la lesión. (INIAF, 2006)

En el caso de *Botrytis fabae* las muestras se recolectaron en la fase vegetativa, presentándose en forma de manchas color chocolate sobre las hojas (fase no agresiva) o en la fase reproductiva con la presencia de manchas necrosadas en los tallos, floración, formación y maduración de vainas (fase agresiva). (INIAF, 2006)

- b. Fase de laboratorio.
- 1) Aislamiento de Alternaria sp. y Botrytis fabae.

Se procedió a realizar cámara húmeda a las muestras recolectadas en campo utilizando el siguiente protocolo:

Se realizó un triple lavado:

Se lavó las muestras en agua corriente, luego se sumergió las muestras en una solución de alcohol al 2% por un minuto, se lavó las muestras con una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 5%, después de cada lavado las muestras se enjuagaron con agua destilada estéril haciendo uso de una piceta, las muestras se las dejó en una caja Petri con papel filtro previamente humedecido durante tres días en condiciones de oscuridad a temperatura ambiente ± 20 °C. (Borges, 2009)

2) Identificación morfológica de Alternaria sp. y Botrytis fabae.

La identificación morfológica se realizó observando las estructuras características de cada hongo bajo el microscopio comparando con la clave de identificación según (Ellis, 1976)

- 3) Inoculación del hongo Alternaria sp. y Botrytis fabae.
- a) Preparación de Agar Papa Dextrosa (PDA).

Se pesó 20 g. de PDA y 0,08 g de cloranfenicol para 500 ml de agua destilada. Se esterilizó el medio de cultivo utilizando el autoclave a una temperatura de 126°C durante 20 minutos, luego se esperó a que el medio de cultivo se enfrié a una temperatura aproximada de 50 °C para verter en las cajas Petri.

- b) Con la aguja de tuxteno se transfirió parte del micelio del hongo al medio de cultivo.
- 4) Purificación del cultivo.

Una vez verificado que el patógeno colonizó el medio de cultivo, se procedió a realizar replicas para obtener una cantidad suficiente para realizar las posteriores pruebas.

5) Preparación de los residuos industriales de la quinua.

Para la técnica de extracción de las soluciones madres a partir de los residuos industriales de la quinua se utilizó el método de Extracción manual - Frotado y lavado durante diez a quince minutos según (Tapia, 2007), luego se filtró para la obtención de las distintas soluciones utilizando embudos y papel filtro.

Para el lavado y extracción de las soluciones madres de los residuos industriales se propuso la siguiente metodología:

- a) 100 g del residuo de escarificado en 2000 ml de agua.
- b) 226,7 g del residuo de polvo en 2000 ml de agua.

c) 226,7 g de quinua escarificada en 1000 ml de agua.

Nota: La solución no debe tenerse más de tres días debido a que tiende a volatilizarse.

6) Pruebas de antagonismo.

Se propuso la siguiente metodología:

 a) Se midió el pH de los extractos, se ajustó a un valor de 6 para permitir el desarrollo de los patógenos.

Según Diab (2012), las saponinas no resisten cambios bruscos de pH, valores muy ácidos o básicos generan la ruptura de los enlaces *O*-glucosídicos. Esta característica es útil y empleada en metodologías para su cuantificación y elucidación estructural

Con respecto a la estabilidad térmica, las saponinas resisten temperaturas superiores a 150 °C e inferiores a 400 °C, temperatura a la cual se inicia el proceso de carbonización de la molécula, posibilitando la implementación de procesos de extracción convencionales que usualmente son favorecidos por el uso de calor. (Ahumada, Ortega, & Chito, 2016),

- b) Se realizó la formulación de PDA en las soluciones de los residuos industriales de quinua: En función de las concentraciones evaluadas (25%, 50% y 75%), se trabajó la formulación de PDA con los extractos en lugar de H<sub>2</sub>O<sub>d</sub>, es decir para 500 ml de PDA:
- i. Al 25% se utilizaron 25 ml de solución madre y 75 ml de H<sub>2</sub>O<sub>d</sub>
- ii. Al 50% se utilizaron 40 ml de solución madre y 40 ml de H<sub>2</sub>O<sub>d</sub>
- iii. Al 75% se utilizaron 75 ml de solución madre y 25 ml de H<sub>2</sub>O<sub>d</sub>

La solución obtenida de cada extracto se añadió antes de la esterilización.

- c) Para el control solo se utilizó PDA formulado de forma normal.
- d) Para el control químico se utilizó un fungicida sistémico de amplio espectro (Ingrediente Activo: Difenoconazole - Score 250 EC), se tomó en cuenta la dosis recomendada por el fabricante.
- i. Para Alternaria sp., se utilizó 56 µL del fungicida para 80 ml de PDA.
- ii. Para Botrytis fabae se utilizaron 170 µL del fungicida para 170 ml de PDA.

Nota: Los cálculos se realizaron de acuerdo a la cantidad de extracto, número de cajas y cantidad de colonias inoculadas.

- e) Se realizó el vertido en las cajas Petri.
- f) Al día siguiente se realizó la siembra de discos de 8 mm extraídos con el sacabocados N°4 al centro de la placa y se evaluó el crecimiento de diámetro micelial cada 24 horas. Además, se debió tener extracto estéril, H<sub>2</sub>O<sub>d</sub>, papel filtro y goteros (micropipeta automática 100 μL) estéril porque se realizó las pruebas de patogenicidad en foliolos de haba.

#### 7) Preparación de la suspensión de esporas.

Al raspado del cultivo in vitro que estaba en las cajas Petri, se le añadió 10 ml de agua destilada en condiciones estériles; luego, la suspensión se homogenizó, se filtró con una gasa y se colocó en viales estériles. Finalmente, se llevó la suspensión a la cámara de Neubauer para el conteo. (Rinel, 2016).

Con los ajustes respectivos en función de las condiciones del laboratorio.

#### 8) Evaluación del desarrollo del hongo.

El efecto de los residuos industriales sobre *Alternaria* sp. y *Botrytis fabae* se evaluó mediante el método de envenenamiento al medio de cultivo agregándole el lavado de los residuos diluidos para obtener las concentraciones correspondientes a 25 %, 50 % y 75 %, se utilizó el medio como diluyente aún en estado líquido. Cada medio (10 ml) se vertió en placas Petri estériles de 8,5 cm de diámetro (Rinel, 2016)

Para el caso de *Alternaria* sp. y *Botrytis fabae*, el medio de cultivo para el crecimiento del hongo fue a base de papa-dextrosa-agar (PDA). (Calvo, 2012).

Finalmente, la inoculación de los fitopatógenos se realizó en el centro de cada placa, donde se colocaron 10 µl de la suspensión conidial (10<sup>5</sup>/ml por superficie) en un radio de 5 mm y se incubó a 25°C. (Rinel, 2016) Los testigos solo contuvieron el medio de cultivo sin adición de los residuos industriales de quinua.

#### 9) Evaluación de la severidad en hojas.

Se colectó hojas sanas de haba y se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 5% durante 1 minuto, seguido de un lavado en agua destilada para eliminar los restos de hipoclorito de sodio; posteriormente, se dejaron las hojas de haba desinfestadas sobre papel filtro estéril; luego, se colocaron dentro de las cajas Petri sobre papel filtro húmedo. (Rinel, 2016).

Se aplicó, homogéneamente, las diferentes soluciones obtenidos de los residuos de la quinua (25 %,50 % y 75 %) en la superficie de las hojas. La inoculación se realizó con la suspensión de conidios.

En cada tratamiento se aplicó una dosis de 10 μl de suspensión con una concentración de 10<sup>5</sup> conidios/ml en la parte central del haz de la hoja; finalmente, se sellaron las placas Petri y se incubaron a 25°C (Rinel, 2016). Para los testigos no se aplicó soluciones, de los residuos industriales de quinua.

10) Todos los datos recolectados se almacenaron y procesaron en una base de datos en Excel.

#### D. CARACTERÍSTICA EXPERIMENTAL.

Para cada tratamiento se utilizó una caja Petri con tres repeticiones, empleando las características antes mencionadas.

#### E. TRATAMIENTOS EN ESTUDIO.

Los tratamientos en estudio se realizaron para: *Alternaria* sp. y *Botrytis fabae*. Tanto en cultivo *in vitro* y en tejido vegetal respectivamente.

Número de tratamientos	9 + 2
Número de repeticiones:	3
Número de unidades experimentales	33

Para los fitopatógenos *Botrytis fabae* y *Alternaria* sp., se replicaron los mismos tratamientos de estudio, en medio de cultivo sintético y en tejido vegetal sano.

Tabla 5. Tratamientos en estudio.

Código	Descripción
T1	Testigo control absoluto (PDA simple).
<b>T2</b>	Testigo control químico - Score (Difenoconazole).
<b>T3</b>	Residuo del lavado obtenido del proceso de escarificación al 25 %.
<b>T4</b>	Residuo del lavado obtenido del proceso de escarificación al 50 %.
<b>T5</b>	Residuo del lavado obtenido del proceso de escarificación al 75 %.
<b>T6</b>	Residuo del lavado obtenido del polvo por el proceso de escarificación al 25 %.
<b>T7</b>	Residuo del lavado obtenido del polvo por el proceso de escarificación al 50 %.
<b>T8</b>	Residuo del lavado obtenido del polvo por el proceso de escarificación al 75 %.
Т9	Residuo obtenido del proceso de lavado de la semilla al 25 %.
T10	Residuo obtenido del proceso de lavado de la semilla al 50 %.
T11	Residuo obtenido del proceso de lavado de la semilla al 75 %.

Nota: Elaborado por. (Sánchez, 2019).

#### F. DISEÑO EXPERIMENTAL.

# 1. Características del diseño.

Se utilizó un diseño completo al azar (DCA), con nueve tratamientos más dos testigos control y tres repeticiones.

# 2. Esquema de análisis de varianza.

Tabla 6. Análisis de varianza (ADEVA).

Fuente de Variación	Fórmula	gl
Tratamientos	T-1	10
Error	T(r-1)	22
Total	(T*r)-1	32

#### 3. Análisis funcional.

 Se aplicó la prueba de TUKEY al 5% cuando existió diferencias significativas entre los tratamientos.

#### G. VARIABLES EN ESTUDIO.

#### 1. Pruebas de antagonismo en PDA formulado con las soluciones.

Se inoculó el hongo en las cajas de PDA con las respectivas soluciones y se revisó cada 24 horas el desarrollo hasta que en algún tratamiento el micelio llene la superficie de la caja determinándose el número de días y tasa de crecimiento.

- a. Porcentaje de inhibición y tasa de crecimiento micelial en medio sintético para *Alternaria* sp. y *Botrytis fabae*
- a) El porcentaje de inhibición micelial se tomó en cuenta el diámetro inicial y final del micelio para cada tratamiento respectivamente aplicando la respectiva fórmula.

Para calcular el porcentaje de inhibición del desarrollo de *Alternaria* sp. y *Botrytis fabae* se utilizó la siguiente fórmula (Rinel, 2016)

Inhibición micelial 
$$\% = \frac{dc - dt}{dc} \times 100$$

Donde:

- dc = diámetro del micelio del control en mm.
- dt = diámetro del micelio del tratamiento en mm.

La evaluación se realizó cada 24 horas y durante 144 horas, midiendo en ocho orientaciones porque estos patógenos se desarrollan radialmente.

b) La tasa de crecimiento micelial en medio sintético se midió en centímetros (cm), iniciando la medida a partir del inóculo (centro de la placa) hasta el borde de ésta (diámetro de la caja Petri 90mm), la medición se realizará cada 24 horas, hasta que no se observan diferencias en el crecimiento. (Rinel, 2016)

Para la tasa de crecimiento micelial se utilizó la siguiente fórmula:

Tasa de crecimeinto 
$$\frac{mm}{d\acute{a}a} = \frac{di\acute{a}metro\ final-di\acute{a}metro\ inicial}{tiempo\ transcurrido}$$

b. Número de esporas producidas.

Se preparó una suspensión de esporas a partir de una caja esporulada con los hongos para cada tratamiento y repetición. Se contabilizó mediante la Cámara de Neubauer, este resultado se expresó en conidios/ml.

Para la suspensión de esporas se utilizó la siguiente fórmula:

$$\frac{Promedio(eporas)}{16(cuadros)}*\frac{400(cuadros)}{0.1mm^3}*\frac{1000\ mm^3}{1\ ml}=conidios/ml$$

#### c. Apariencia de la colonia.

Se observó directamente en las cajas Petri la colonia y se determinó la forma, borde, elevación y color. Se tomó en cuenta las características de la colonia según (Claudia, 2009).

Esta información se registró en la matriz realizada para el efecto.

#### 2. Pruebas de antagonismo en tejido vegetal sano.

Se colocó 1 ml de la solución en sus distintas concentraciones en el foliolo acompañado de un tenso activo (ARPON-0,15cc/L) para romper la tensión superficial, después se esperó aproximadamente 5 minutos a que se impregne y sobre la superficie se colocó la suspensión de esporas 1x10<sup>5</sup> conidios/ml.

- a. Incidencia y severidad en hojas con Alternaria sp. y Botrytis fabae.
- a) Incidencia.

Se observó si le enfermedad está o no presente en la hoja de haba, tomando en consideración el número de días en el que se presentó la enfermedad. (Maydana, 2001)

#### b) Severidad.

Se determinó la severidad de la enfermedad aplicando las escalas diagramáticas (Tabla 7), recomendadas por French y Herbert., citado por (Maydana, 2001).

Tabla 7. Grado de Severidad del cultivo.

Ataque	Grado de	Descripción teórica					
	severidad						
Indicios de presencia	0 % a 6 %	Existen puntos de inicio.					
Superficial	7 % a 17 %	Existen pequeños puntos, pero no existe daño.					
Moderado	18 % a 36 %	Manchas en los foliolos, de baja susceptibilidad.					
Grave	37 % a 63 %	Manchas con necrosamiento, varios macollos dañados.					
Severo	64 % a 80 %	Despojo de hojas y muchos macollos dañados					

Nota: French y Herbert, citado por (Maydana, 2001)

# VII. RESULTADOS.

# A. PRUEBAS DE ANTAGONISMO EN MEDIO DE CULTIVO SINTÉTICO.

#### 1. Porcentaje de inhibición y tasa de crecimiento micelial en medio de cultivo sintético.

a. Porcentaje de inhibición micelial en medio de cultivo sintético formulado con PDA + Solución del residuo industrial en diferentes concentraciones para *Alternaria* sp.

El análisis de varianza para la variable porcentaje de inhibición micelial en medio de cultivo sintético para *Alternaria* sp., mostró diferencias altamente significativas entre tratamientos con un coeficiente de variación de 7,04 % (Tabla 8).

Tabla 8. Análisis de la varianza para el % de Inhibición Micelial en Alternaria sp.

F.V.	SC	gl	CM	F	Significancia
TRATAMIENTOS	15958,55	10	1595,85	2152,48	**
REPETICIONES	5,47	2	2,74	3,69	ns
Error	14,83	20	0,74		
Total	15978,85	32			
CV	7,04				

Nota: Elaborado por. (Sánchez, 2019)

ns: No significativo.

<sup>\*\*:</sup> Altamente significativo.

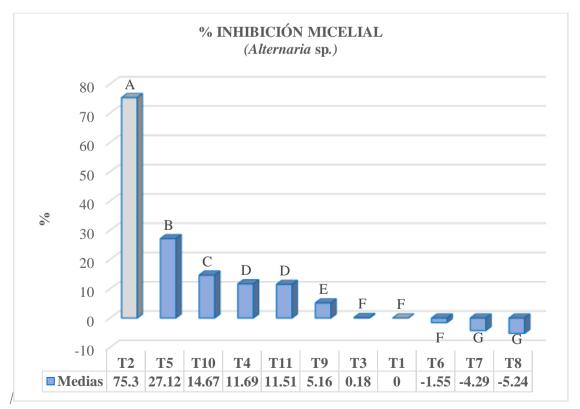


Figura 4. Porcentaje de Inhibición micelial para *Alternaria* sp en medio de cultivo sintético. Nota: Elaborado por. (Sánchez, 2019)

En la Figura 4 se observó que para la variable porcentaje de inhibición micelial, el residuo del lavado obtenido del proceso de escarificación al 75 % (T5) presentó una media de 27,12 %, en relación al Testigo control químico Score-Difenoconazole (T2), que presentó una media de 75,3 %; mientras que el residuo del lavado obtenido del polvo por el proceso de escarificación al 25 %, 50 % y 75 % (T6), (T7) y (T8) produjeron un efecto contrario, es decir indujeron a un crecimiento acelerado del hongo, llegando hasta una media de – 5,24 % de inhibición micelial, lo que quiere decir que en estos tratamientos se observó un crecimiento del hongo a relación de los demás tratamientos que expresaron una reducción del mismo. Se puede atribuir este efecto posiblemente al contenido de proteínas que presenta estos residuos. (Anexo 3)

Las plantas de quinua son una fuente invaluable de nuevas moléculas biológicamente activas, producen metabolitos secundarios (saponinas), presentando actividad antifúngica, (Davicho, 2007)

b. Tasa de crecimiento micelial en medio de cultivo sintético formulado con PDA + Solución del residuo industrial en diferentes concentraciones para *Alternaria* sp.

El análisis de varianza para la variable tasa de crecimiento micelial en medio de cultivo sintético para *Alternaria* sp., mostró diferencias altamente significativas entre tratamientos con un coeficiente de variación de 1,54 % (Tabla 9).

Tabla 9. Análisis de la varianza para la tasa de crecimiento micelial en Alternaria sp.

F.V.	SC	gl	CM	F	Significancia
TRATAMIENTOS	165,43	10	16,54	2358,06	**
REPETICIONES	0,02	2	0,01	1,45	ns
Error	0,14	20	0,01		
Total	165,59	32			
CV	1,54				

Nota: Elaborado por. (Sánchez, 2019)

ns: No significativo.

<sup>\*\*:</sup> Altamente significativo.



Figura 5. Tasa de crecimiento micelial para *Alternaria* sp en medio de cultivo sintético. Nota: Elaborado por. (Sánchez, 2019)

En la Figura 5 se observó que para la variable tasa de crecimiento micelial el residuo del lavado obtenido del proceso de escarificación al 75 % (T5) presentó una media de 4.36 mm/día, en relación al Testigo control químico Score-Difenoconazole (T2) el cual presentó una media de 0.39 mm/día, mientras que los tratamientos con residuo del lavado obtenido del proceso de escarificación al 25 % (T3) y los residuos del lavado obtenido del polvo por el proceso de escarificación al 75% y 50% (T8) y (T7) presentaron tasas de crecimientos aceleradas con medias de 6.03 mm/día, 6.11 mm/día y 6.14 mm/día respectivamente, adicionalmente cabe indicar que el Testigo control absoluto T1 (PDA simple) presenta una media de 10.59 mm/día.

La planta de quinua contiene saponinas en diferentes partes de la planta (flores, frutos y grano), siendo este último donde se encuentra su mayor contenido, principalmente en el epispermo del grano. Las saponinas tienen actividad antifúngica. (Rinel & Hugh, 2016).

 Porcentaje de inhibición micelial en medio de cultivo sintético formulado con PDA + Solución del residuo industrial en diferentes concentraciones para *Botrytis fabae*.

El análisis de varianza para la variable porcentaje de inhibición micelial en medio de cultivo sintético para *Botrytis fabae*, mostró diferencias altamente significativas entre tratamientos con un coeficiente de variación de 7,32 % (Tabla 10).

Toble 10	) Análisis de la		al 0/ da Inhihiaián	Micelial en Botrytis fabae.	
Tabia Tu	). Anausis ae u	i varianza para	ei % ae innibición	Mucenai en Boirvus tabae.	

F.V.	SC	gl	CM	F	Significancia
TRATAMIENTOS	25589,17	10	2558,92	516,12	**
REPETICIONES	80,1	2	40,05	8,08	ns
Error	99,16	20	4,96		
Total	25768,42	32			
CV	7,32				

ns: No significativo.

\*\*: Altamente significativo

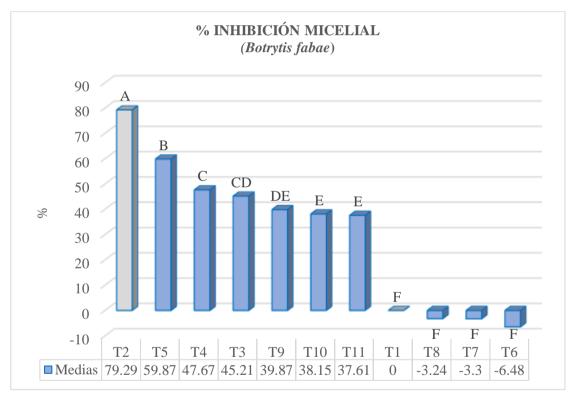


Figura 6. Porcentaje de Inhibición micelial para *Botrytis fabae* en medio de cultivo sintético. Nota: Elaborado por. (Sánchez, 2019)

En la Figura 6 se observó que para la variable porcentaje de inhibición micelial, el residuo del lavado obtenido del proceso de escarificación al 75 % (T5) presentó una media de 59,87 %, en relación al Testigo control químico Score-Difenoconazole (T2), que presentó una media de 79,29 %; mientras que el residuo del lavado obtenido del polvo por el proceso de escarificación al 75%, 50% y 25% (T8), (T7) y (T6) produjeron un efecto contrario, es decir indujeron a un crecimiento acelerado del hongo, llegando hasta una media de - 6,48 % de inhibición micelial, lo que quiere decir que en estos tratamientos se observó un crecimiento del hongo a relación de los demás tratamientos que expresaron una reducción del mismo. Se puede atribuir este efecto posiblemente al contenido de proteínas que presenta estos residuos.

Según Repo (2014), menciona que la quinua es una fuente excelente de proteínas, lípidos e hidratos de carbono. (Anexo 3)

d. Tasa de crecimiento micelial en medio de cultivo sintético formulado con PDA + Solución del residuo industrial en diferentes concentraciones para *Botrytis fabae*.

El análisis de varianza para la variable tasa de crecimiento micelial en medio de cultivo sintético para *Botrytis fabae*, mostró diferencias altamente significativas entre tratamientos con un coeficiente de variación de 4,29 % (Tabla 11).

Tabla 11. Análisis de la varianza para la tasa de crecimiento micelial en Botrytis fabae.

F.V.	SC	gl	CM	F	Significancia
TRATAMIENTOS	1026,84	10	102,68	589,32	**
REPETICIONES	0,14	2	0,07	0,4	ns
Error	3,48	20	0,17		
Total	1030,47	32			
CV	4,29				

Nota: Elaborado por. (Sánchez, 2019)

ns: No significativo.

<sup>\*\*:</sup> Altamente significativo.

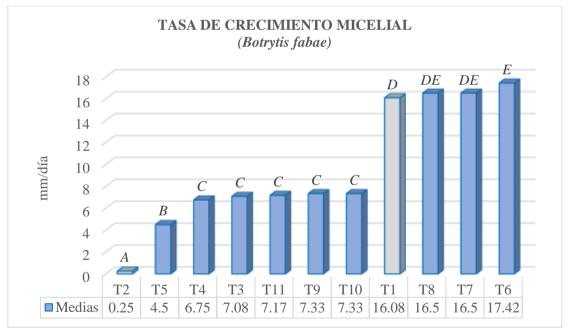


Figura 7. Tasa de crecimiento micelial para *Botrytis fabae* en medio de cultivo sintético. Nota: Elaborado por. (Sánchez, 2019)

En la Figura 7 se observó que para la variable tasa de crecimiento micelial el residuo del lavado obtenido del proceso de escarificación al 75 % (T5) presentó una media de 4,5 mm/día, en relación al Testigo control químico Score-Difenoconazole (T2) el cual presentó una media de 0.25 mm/día, mientras que los tratamientos del residuo del lavado obtenido del polvo por el proceso de escarificación al 75 %, 50 % y 25 % (T8), (T7) y (T6) presentaron las tasas más aceleradas de

crecimientos con medias de 16.5 mm/día, 16.5 mm/día y 17.42 mm/día respectivamente, siendo estas las tasas de mayor velocidad de crecimiento comparadas con el Testigo control absoluto T1 (PDA simple) presentó una media de 16.08 mm/día.

La germinación de *Botrytis fabae* está controlada bajo vías de señalización en las que intervienen el contenido de proteínas. (Doehlemann, Berndt, & Hahn, 2006).

- e. Número de esporas producidas.
- 1) Para *Alternaria* sp., se observó una suspensión de esporas para el Testigo control absoluto en PDA simple (T1) de 1,72\*10<sup>5</sup> conidios/ml., 20 días después de haber inoculado el hongo.

Los demás tratamientos no formaron esporas hasta 30 días después de la inoculación del hongo, debido posiblemente a las condiciones de humedad y temperatura o inclusive a las soluciones utilizadas para la formulación con el PDA, se observó solo la formación de micelio.

2) Para *Botrytis fabae* se observó una suspensión de esporas para el Testigo control absoluto PDA simple (T1) de 1,71\*10<sup>5</sup> conidios/ml., 15 días después de haber inoculado el hongo.

Los demás tratamientos no formaron esporas hasta 30 días después de la inoculación del hongo, formándose únicamente esclerocios; esto posiblemente a las condiciones de humedad y temperatura, según (Herrera, y otros, 1986) mencionan que la formación de los esclerocios está influenciada por múltiples factores como la temperatura (11-13  $^{0}$ C), luz, el pH y la composición del tejido sobre el que se desarrolla.

- f. Apariencia de la colonia
- 1) Características morfológicas de *Alternaria* sp.

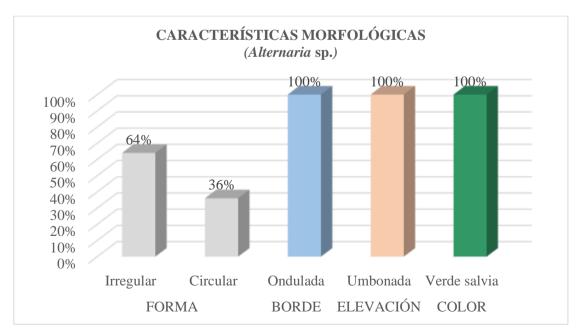


Figura 8. Características morfológicas de la colonia- *Alternaria* sp. Nota: Elaborado por. (Sánchez, 2019)

Las características morfológicas que presentó *Alternaria* sp., se puede apreciar en la Figura 8, teniendo que los tratamientos T4, T5, T10 y T11 presentaron forma circular, mientras que en los demás tratamientos se observó una forma irregular, adicionalmente el 100 % de los tratamientos presentó un borde ondulado, elevación umbonada y un color verde salvia.

Según Rivas (2014), manifiesta que las colonias de *Alternaria* sp., son umbonadas y algodonosas, de coloración blanca grisácea inicialmente y posteriormente se observa su superficie de color café o verde oliva oscura, el reverso de la colonia es café oscuro a negro, como resultado del depósito de pigmento dihidroxinaftaleno-melanina

#### 2) Características morfológicas de Botrytis fabae.

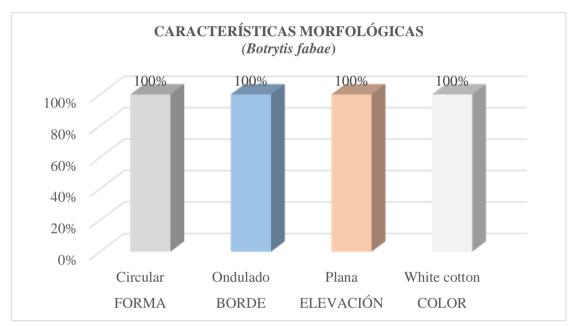


Figura 9. Características morfológicas de la colonia- *Botrytis fabae*. Nota: Elaborado por. (Sánchez, 2019)

Las características morfológicas que presentó *Botrytis fabae* se puede apreciar en la Figura 9, siendo así que el 100 % de los tratamientos tienen forma circular, borde ondulado, elevación plana y tienen un color white cotton (blanco algodón).

Las colonias de *Botrytis fabae* según (Durán & Mosquera, 2007) en los primeros días muestran un micelio con coloración blanco algodonosa a una temperatura de incubación de 25 °C y a medida que envejecen las colonias toman un aspecto pulverulento de color grisáceo a parduzco.

#### B. PRUEBAS DE ANTAGONISMO EN TEJIDO VEGETAL.

#### 1. <u>Incidencia y severidad en hojas.</u>

- a. Incidencia en tejido vegetal con presencia de Alternaria sp.
- 1) En el 100 % de los tratamientos con tejido vegetal se observó la presencia del fitopatógeno *Alternaria* sp. 96 horas después de haberse realizado la inoculación.

#### b. Severidad en tejido vegetal con presencia de Alternaria sp.

El análisis de varianza para el grado de severidad en *Alternaria* sp., mostró diferencias altamente significativas entre tratamientos con un coeficiente de variación de 7,08 % (Tabla 12).

Tabla 12. Análisis de la Varianza para severidad de Alternaria sp., sobre tejido vegetal.

F.V.	SC	gl	CM	F	Significancia
TRATAMIENTOS	41739,3	10	4173,93	292,75	**
REPETICIONES	37,12	2	18,56	1,3	ns
Error	285,16	20	14,26		
Total	42061,58	32			
CV	7,08				

Nota: Elaborado por. (Sánchez, 2019)

ns: No significativo.

<sup>\*\*:</sup> Altamente significativo.

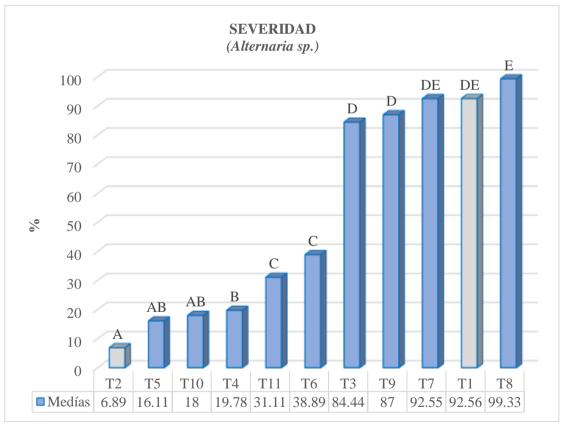


Figura 10. Porcentaje de severidad con Alternaria sp., sobre tejido vegetal. Nota: Elaborado por. (Sánchez, 2019)

En la Figura 10 se observó que para la variable severidad, el residuo del lavado obtenido del proceso de escarificación al 75 % (T5) presentó con una media de 16.11 %, seguido del residuo obtenido del proceso de lavado de la semilla al 50 % (T10) con una media de 18 %, en relación

al Testigo control químico Score-Difenoconazole (T2), el cual presentó una media de 6.89 %; mientras que el residuo del lavado obtenido del polvo por el proceso de escarificación al 75 % (T8) presentaron el porcentaje de severidad más altos con una media de 99.33 %, siendo este valor superior al testigo control absoluto T1 (PDA simple) que presentó una media de 92.56 %.

Comparado con el diagrama de severidad del cultivo (Tabla 7), con el residuo del lavado obtenido del proceso de escarificación al 75 % (T5) se observó un ataque superficial del foliolo, existiendo pequeños puntos, pero sin hallarse daño y con el residuo obtenido del proceso de lavado de la semilla al 75 % (T10) se obtuvo un ataque moderado con machas en el foliolo de baja susceptibilidad.

Se puede apreciar que la severidad es inversamente proporcional a la concentración de los residuos utilizados. A mayor concentración menor el porcentaje de severidad.

- c. Incidencia en tejido vegetal con presencia de Botrytis fabae.
- 1) En el 100 % de los tratamientos con tejido vegetal se observó la presencia del fitopatógeno *Botrytis fabae* 96 horas después de haberse realizado la inoculación.
- d. Severidad en tejido vegetal con presencia de Botrytis fabae.

El análisis de varianza para la variable severidad en *Botrytis fabae*, mostró diferencias altamente significativas entre los tratamientos con un coeficiente de variación de 9,34 % (Tabla 13).

Tabla 13. Análisis de la Varianza para severidad de Botrytis fabae sobre tejido vegetal.

F.V.	SC	gl	CM	F	Significancia
TRATAMIENTOS	26742,02	10	2674,2	166,67	**
REPETICIONES	86,11	2	43,05	2,68	ns
Error	320,89	20	16,04		
Total	27149,02	32			
CV	9,34				

Nota: Elaborado por. (Sánchez, 2019)

ns: No significativo.

<sup>\*\*:</sup> Altamente significativo.

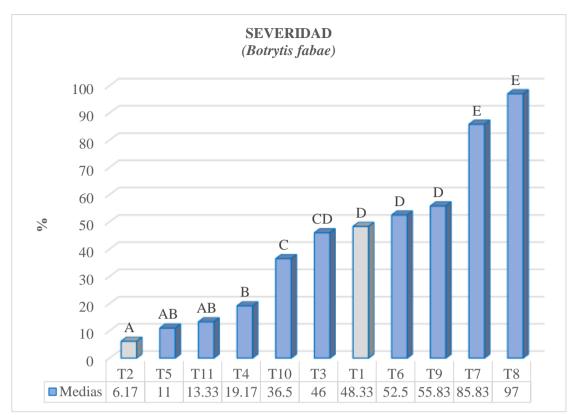


Figura 11. Porcentaje de severidad con *Botrytis fabae* sobre tejido vegetal. Nota: Elaborado por. (Sánchez, 2019)

En la Figura 11 se observó que para la variable severidad, el residuo del lavado obtenido del proceso de escarificación al 75 % (T5) presentó una media del 11 %, seguido del residuo obtenido del proceso de lavado de la semilla al 75 % (T11) con una media de 13,33 %, en relación al Testigo control químico Score-Difenoconazole (T2), el cual presentó una media de 6,17 %; mientras que el residuo del lavado obtenido del polvo por el proceso de escarificación al 25 %, 50 % y 75 % (T6), (T7) y (T8) presentaron el porcentaje de severidad más altos con medias de 52.5 %, 85,83 % y 97 %, incluido el residuo obtenido del proceso de lavado de la semilla al 25 % (T9) con una media de 55, 83 % respectivamente, siendo estos valores superiores al Testigo control absoluto T1 (PDA simple) que presentó una media de 48.33 %.

Comparado con el diagrama de severidad del cultivo (Tabla 7), con el residuo del lavado obtenido del proceso de escarificación al 75 % (T5) y el residuo obtenido del proceso de lavado de la semilla al 75 % (T11), se observó un ataque superficial del foliolo, existiendo pequeños puntos, pero sin hallarse daño.

El mayor % de severidad puede deberse posiblemente a las bajas concentraciones de los residuos utilizados. (Maydana, 2001), indica que los extractos naturales en dosis altas son más eficientes en el control de la mancha chocolate con relación a los extractos en dosis bajas.

#### VIII. CONCLUSIONES.

- A. El tratamiento con el residuo del lavado obtenido del proceso de escarificación al 75 % (T5) ejerció efectos de control sobre *Alternaria* sp., en las siguientes variables: porcentaje de inhibición micelial en medio de cultivo sintético del 27,12 % y tasa de crecimiento micelial de 4,36 mm/día, en comparación con el tratamiento control absoluto de 10,59 mm/día.
- B. El tratamiento con el residuo del lavado obtenido del proceso de escarificación al 75 % (T5) ejerció efectos de control sobre *Botrytis fabae*, en las siguientes variables: porcentaje de inhibición micelial en medio de cultivo sintético del 59,87 % y tasa de crecimiento micelial de 4,5 mm/día, en comparación con el tratamiento control absoluto de 16,08 mm/día.
- C. Para el caso de la variable severidad en foliolos de haba (tejido vegetal), inoculados con *Alternaria* sp., el residuo del lavado obtenido del proceso de escarificación al 75 % (T5) y el residuo obtenido del proceso de lavado de la semilla al 50 % (T10), presentaron promedios de 16.11 % y 18 % respectivamente; es decir que al aplicar los tratamientos antes mencionados se logra reducir el avance de la enfermedad en tejido vegetal en forma moderada.
- D. Para el caso de la variable severidad en foliolos de haba (tejido vegetal), inoculados con *Botrytis fabae*, el residuo del lavado obtenido del proceso de escarificación al 75 % (T5) y el residuo obtenido del proceso de lavado de la semilla al 75 % (T11), presentaron promedios de 11 % y 13,3 % respectivamente; es decir que al aplicar los tratamientos antes mencionados se logra reducir el avance de la enfermedad en tejido vegetal.

# IX. RECOMENDACIONES.

- A. Validar en campo los resultados obtenidos en el laboratorio, para corroborar los resultados de la misma.
- B. Investigar el efecto de los residuos utilizando concentraciones que superen el 75% de la solución.
- C. Combinar los residuos de la quinua con extractos, macerados, tés de otras plantas o especies para medir sus efectos.
- D. Tomar en consideración la procedencia de los residuos, para determinar la eficiencia de los mismos, adicionalmente se recomienda no almacenar la solución de los residuos por más de tres días, ya que sus propiedades pueden alterarse.
- E. Evaluar los residuos sobre organismos benéficos utilizados en la agricultura.

#### X. RESUMEN.

La presente investigación propone: evaluar el efecto de tres residuos industriales de la quinua sobre Alternaria sp. y Botrytis fabae en haba (Vicia faba), realizado en el laboratorio del Departamento de Ciencias Biológicas de la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH; se utilizó un diseño completo al azar, con nueve tratamientos más dos testigos control y tres repeticiones; los tratamientos correspondieron a: residuo del lavado obtenido del proceso de escarificación (RLPE), residuo del lavado obtenido del polvo por el proceso de escarificación (RLPPE) y el residuo obtenido del proceso de lavado de la semilla (RPLS), al 25%, 50% y 75%. Se evaluó el porcentaje de inhibición y tasa de crecimiento micelial en medio de cultivo sintético y porcentaje de severidad en tejido vegetal. De acuerdo a los resultados obtenidos el RLPE al 75 %, produjo un porcentaje de inhibición del 27,12% para Alternaria sp y 59,87% para Botrytis fabae. La tasa de crecimiento fue de 4,36 mm/día para Alternaria sp. y 4,5 mm/día para Botrytis fabae. Para la variable severidad en foliolos de haba (tejido vegetal), inoculados con Alternaria sp., el RLPE al 75 % y el RPLS al 50 %, presentaron promedios de 16.11 % y 18 % respectivamente, se observó un ataque de superficial a moderado y con Botrytis fabae, el RLPE al 75 % y el RPLS 75 %, presentaron promedios de 11 % y 13,3 % respectivamente, se observó un ataque superficial; logrando para ambos casos reducir el avance de la enfermedad en tejido vegetal. Desde el punto de vista agronómico se recomienda utilizar concentraciones que superen al 75 % de la solución evaluada.

Palabras clave: RESIDUOS INDUSTRIALES – CONCENTRACIONES DE RESIDUOS - INHIBICIÓN MICELIAL -SEVERIDAD DE HOJAS.

Por: Víctor Sánchez.



#### X. SUMMARY.

This research proposes: to evaluate the effect of three industrial residues of quinoa on Alternaria sp. and Botrytis fabas in bean (Vicia faba), carried out in the laboratory of the Department of Biological Sciences of the Faculty of Natural Resources of ESPOCH; a complete random design was used, with nine treatments plus two control controls and three replicates; The treatments corresponded to: residue of the washing obtained from the process of scarification (RLPE), residue of the washing obtained from the dust by the process of scarification (RLPPE) and the residue obtained from the process of the seed washing (RPLS), to 25%, 50% and 75%. The percentage of inhibition mycelial growt rate in syntheticculture médium and percentage of serverity in plant tissue were evaluated. According to the results obtained RLPE to 75%, produced a inhibition percentage of 27.12% for Alternaria sp. and 4.5 mm/day for Botrytis fabas. For the variable severity of bean leaflets (plant tissue), inoculated with Alternaria sp. RLPE at 75% and RPLS 50%. showed averages of 16.11% and 18% respectively, a superficial to moderate attack was observed and with Botrytis fabas, RLPE at 75% and RPLS 75%, showed averages of 11% and 133% respectively, a superficial attack was observed; achieving in both cases reduce the progression of the disease in plant tissue. From the agronomic point of view it is recommended to use concentrations exceeding 75% of the evaluated solution.

Key words: INDUSTRIAL WASTE - RESIDUES CONSENTRATIONS - MYCELIA INHIBITION - SEVERITY LEAVES.



# VIII. BIBLIOGRAFÍA.

- Agrios. (2004). Fitopatología (2ª. ed.). México: Limusa.
- Ahumada, A., Ortega, A., & Chito, D. (2016). Saponinas de quinua (Chenopodium quinoa). Recuperado el 18 de septiembre de 2018, de Grupo de Investigación en Química de Productos Naturales. http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v45n3/v45n3a06.pdf
- Apaza, R. (2016). Efecto de saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd contra el fitopatógeno. *Rev. Protección Veg. 31(1)*, 5.
- Apaza, R. (2016). Efecto de saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd contra el fitopatógeno. *Protección vegetal*, 7. (1), 5.
- Apaza, R., Smeltekop, H., & Flores, Y. (2016). Efecto de saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd contra el fitopatógeno. *Rev. Protección Veg. 31(1)*, 5.
- Borges, M. (2009). Uso de distintos tratamientos de desinfección en cultivo *in vitro* con hipoclorito de sodio. *Colombiana Biotecnol, XI*, 3. Recuperado el 15 de Agosto de 2018, de file:///C:/Users/ju /Dialnet-UsoDeDistintosTratamientosDeDesinfeccionEnElCultiv-3105408.pdf
- Box, J. M. (2016). *Habas de huerta*. Recuperado el 18 de Noviembre de 2018, de Instituto de semillas selectas: https://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd\_1957\_06.pdf
- Calvo, J. (2012). Aislamiento y evaluación *in vitro* de antogonistas de *Botrytis cinerea* en mora. *scielo.org*. Recuperado el 11 de 10 de 2017, de scielo.org: http://www.scielo.sa.cr/pdf/mlcr/v23n2/a01v23n2.pdf
- Carrero, J. (2008). Plagas del campo. Madrid, España: Mundi-Prensa.
- Claudia, A. (2009). *Morfología de las colonias bacterianas*. Recuperado el 15 de Agosto de 2018, de Microdonto: https://microdonto.files.wordpress.com/2009/03/morfologia-de-las-colonias-bacterianas.pdf
- Coca, M. (2004). Densidad de siembra e incidencia de enfermedades foliares causadas por hongos y rendimiento potencial del cultivo dle haba (Vicia faba) en el Altiplano Norte de la Paz. (Tesis de grado. Ingeniero Agrónomo). Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía. La Paz, Bolivia.
- Coca, M. (2009). Evaluación de resistencia de ecotipos de haba (Vicia faba) A. Recuperado el 13 de Noviembre de 2018, de Manchas foliares del haba (Vicia faba L Universidad). (Tesis de grado. Ingeniero Agrónomo). Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía. La Paz, Bolivia.. Recuperado el 11 de 10 de 2017, de http://bibliotecadigital.umsa.bo:8080/rddu/bitstream/123456789/4995/1/T-1325.pdf
- Condori, N., León, B., & Zapana, J. (2016). Hongos antagónicos nativos de *Vicia faba* L. con capacidad de biocontrol hacia *Botrytis fabae* S. *Investigaciones Altoandinas*, 281-288.

- Recuperado el 28 de Septiembre de 2018, de https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5645613
- Davicho, R. (2007). Actividad antifúngica de extractos de plantas usadas en medicina popular en Argentina. *Perú*, 247-251. Recuperado el 1 de Diciembre de 2018, de http://www.bolivianchemistryjournal.org/QUIMICA%202015/2\_Fungi\_contol\_by\_Che nopodium\_saponins.pdf
- Delgado, L. (2017). *Rendimiento del cultivo de haba verde Vicia*. Recuperado el 15 de Agosto de 2018, de Cultivo de haba: http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/2758/Agdegala.pdf?sequence=1 &isAllowed=y
- Diab, Y., Ioannou, E., Emam, A., Vagias, C., Roussis, V., & Desmettianosides, A. (2012). Saponinas de furostanol bisdesmosídicas con actividad molusquicida de Yucca desmettiana. México: Limusa
- Doehlemann, G., Berndt, G., & Hahn, M. (2006). Different signalling pathways involving a Gx protein, cAMO and a MAP kinase control germination of *Botrytis fabae* conidia. Canada: Publmed
- Durán López, M., & Mosquera Veitimilla, P. (2007). Actividad biocontroladora de Hongos de suelo sobre Microorganismos Fitopatógenos. En M. Durán. Cuenca, Azuay, Ecuador. Recuperado el 1 de Enero de 2019, de https://books.google.com.ec/books?id=EX8zAQAAMAAJ&pg=PA46&lpg=PA46&dq=colonia+de+botrytis,+color+y+forma&source=bl&ots=FIt42Cqdf3&sig=rD2D6keZ6Fifzu0POOhNlPj8IG4&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwiiuLXVxObfAhXjm-
- Ellis. (1976). *More dematiaceous hyphomycetes*. Inglaterra: Cambrian Printes Ltd, Aberystwyth. Recuperado el 18 de diciembre de 2018, de https://www.scirp.org/(S(vtj3fa45qm1ean45vvffcz55))/journal/PaperInformation.aspx? PaperID=75802
- Espinal, C., Huanca, M., Terrazas, E., & Giménez, A. (2010). Evaluación de la actividad biocontroladora de Trichoderma inhamatum. *Rev. Scielo.* 31(1), 7.
- Espinoza, M. (2006). Estudio de la variabilidad Genética y Organización Cromosómica en el hongo fitopatógeno Botrytis cinerea. (Tesis doctoral. Bioquímica y Biología Molecular,). Universidad de Cádiz, Puerto Real. Recuperado el 1 de Noviembre de 2018, de http://minerva.uca.es/publicaciones/asp/docs/tesis/MCarbuEspinosa.pdf
- Food and Agriculture Organization. (2012). *Aumenta la importación de agroquímicos en el Ecuador*. Recuperado el 15 de Agosto de 2018, de Agricultura orgánica: http://www.fao.org/organicag/oa-faq/oa-faq6/es/
- Gaibor, G. (25 de 08 de 2018). Residuos industriales de la quinua. (V. Sánchez, Entrevistador). Euador: Chimborazo.
- Guitiérrez, J. L. (2008). Control de la mancha chocolate (Botrytis fabae Sard), en dos variedades de haba (Vicia fabae L.) mediante la aplicación de fungicidas en la comunidad de La

- *Palca.* (Tesis de grado. Ingeniero Agrónomo). Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía. La Paz, Bolivia. Recuperado el 15 de Agosto de 2018, de IICA: http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=cidab.xis&
- Guzman, B. (2015). Saponins from chenopodium quinoa willd and. Revista Boliviana de Química, Redalyc 32(1), 3.
- Herrera, L., Sagasta, M., Grana, E., (1986). Estudio de la facies esclerocial de Botrytis sp. En *Phytopath*. 25 (3), 25
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. (1990). Estudio, identificación y control de principales enfermedades y plagas del haba (Vicia faba) (prociandino ed., Vol. Boletín Técnico N. 5). Quito, Subregión Andina, Quito.
- Infoagro. (2017). *Técnicas para el control de botrytis*. Recuperado el 22 de Octubre de 2018, de Control biológico: http://www.infoagro.com/abonos/botrytis2.htm
- Infoagro. (2017). *El cultivo de Haba*. Recuperado el 20 de Agosto de 2018, de abcAgro: http://www.abcagro.com/hortalizas/haba.asp
- Instituto de Investigaciones Agropecuarias (2017). Fitopatología Enfermedades en hortalizas. Recuperado el 1 de Agosto de 2018, de Instituto de Investigaciones agropecuarias: http://www.inia.cl/wpcontent/uploads/FichasTecnicasSanidadVegetal/Ficha%2038%20
  Alternaria%20en%20tomate.pdf
- Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal. (2006). *Manual del cultivo de haba*. Recuperado el 22 de Octubre de 2018, de http://www.amdeco.org.bo/archivos/manualdelcultivodelhaba.pdf
- Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal. (2006). *Manual del cultivo de haba*. Recuperado el 11 de 8 de 2018, de www.amdeco.org.bo: http://www.amdeco.org.bo/archivos/manualdelcultivodelhaba.pdf
- Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. (1993). Guía para el cultivo del haba. *INIAP*. Recuperado el 15 de Agosto de 2018, de Guía para el cultivo de haba: repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/9/6/iniapscbd240.pdf
- Agencia de Cooperación Internacional del Japón (2006). *Manual de Producción del Haba* (JICA ed.). Achacachi, Bolivia.
- Gilchrist. (2002). *Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades*. Recuperado el 11 de Septiembre de 2018, de https://ageconsearch.umn.edu/bitstream/56guiaTrigoCebada.pdf
- Ladies Industriales. (2011). Extracción de saponina del escarificado de la quinua. Recuperado el 12 de 09 de 2018, de http://pasoapasoladiesindustriales.blogspot.com/p/investigacion-descriptiva-extraccion-de.html
- Leach, L., & Garber, R. (1970). Control de Rhizoctoni. Estados Unidos: Parmeter.

- López, A. (2006). Evaluación de extractos vegetales para manejo de hongos patógenos en banano y fresa almacenados. *BDIGITAL*, 2(4), 1
- López, I. J. (2017). *Fenología del Haba*. Recuperado el 18 de diciembre de 2018, de SCRIBD: https://es.scribd.com/doc/153002377/Fenologia-Del-Haba
- Lozano, M. (2012). Cuantificación de saponinas en residuos de quinua real. Revista Boliviana de Química, Scielo. 2 (2), 4
- Ministerio del Ambiente Ecuador (2013). *Clasificación ecológica*. Recuperado el 15 de Septiembre de 2018, de SCRIBD: https://es.scribd.com/doc/61093411/Sistema-declasificacion-de-zonas-de-vida-de-Holdridge
- Mamani, F. (2007). *Uso de trichoderma* sp *para el control de enfermedades fungosas foliares en haba (vicia faba L.) en el altiplano norte, La Paz.* (Tesis de grado. Ingeniero Agrónomo). Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía. La Paz, Bolivia. Recuperado el 16 de Agosto de 2018, de UMSA: http://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/4251/T-1197.pdf?sequence=1&
- Maydana, A. (2001). Efecto de extractos naturales en el control de mancha de chocolate del cultivo de haba. San Andrés, La Paz, Bolivia. (Tesis de grado. Ingeniero Agrónomo). Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía. La Paz, Bolivia. Recuperado el 22 de Diciembre de 2018, de http://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/6954/T-2153.pdf?sequence.
- Meyhuay. (2010). *Operaciones Poscosecha de Quinua*. Recuperado el 22 de Diciembre de 2018, de Lima:FAO: http://www.fao.org/docrep/018/ar364s/ar364s.pdf
- Microbitos, G. (2010). *Morfología colonial bacteriana en medios de cultivo*. (G. Microbitos, Editor) Recuperado el 5 de Agosto de 2018, de http://microbitosblog.com/2010/06/14/morfologia-colonial-bacteriana/
- Miranda, A., Cruz, J., & Calyecac, H. (2015). Orchesella bifasciata (Entomobrydae:Collembola) Controlador biológico (L. de, Ed.) *Entomología Mexicana*, 2, 6. Recuperado el 17 de diciembre de 2018, de http://www.entomologia.socmexent.org/revista/entomologia/2015/CB/PAG%223.pdf
- Pavón, M., Gonzáles, A., & García, T. (2012). Importancia del género *Alternaria* como productor de micotoxinas y agente causal de enfermedades humanas. *Scielo Anaytics*, 8.
- Quiton, H. (2000). *Enfermedades de haba*. (H. W. Milan, Ed.) Cochabamba, Bolivia: Programa Nacional de Leguminosas de Grano.
- Repo, R. (2014). Valor nutricional y compuestos bioactivos en los cultivos andinos: Redescubriendo los tesoros olvidados. (O. C. Meza, Ed.) Lima, Perú: UNALM.
- Rinel, A. E. (04 de 2016). Efecto de saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd contra el fitopatógeno *Cercospora beticola* Sacc. Recuperado el 10 de Octubre de 2018, de /scielo.sld.cu: http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v31n1/rpv09116.pdf

- Rinel, A., & Hugh, S. (2016). Efecto de saponinas de Chenopodium quinoa Willd contra el fitopatógeno Cercospora beticola Sacc. *Protección Vegetal*, *Scielo* 7(2), 3
- Rivas, L. M. (2014). *Alternaria* spp. *SCIELO*, *31*(5). Recuperado el 2 de Noviembre de 2018, de https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S0716-10182014000500013
- Rivas, M. (2014). Retrato microbiológico, *Alternaria* sp. *Chilena Infecol*. Recuperado el 10 de Octubre de 2018, de https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v31n5/art13.pdf.
- Rodriguez, J. (1929). Una especia nueva de Botrytis que ataca a las habas. En *Patología Vegetal y Entomologia Agricola* Recuperado el 2 de Noviembre de 2018, de http://www.agroes.es/agricultura/control-de-plagas-enfermedades/enfermedades/1440-botrytis-fabae-sardina-gena-de-las-habas-haba-veza
- Rodriguez, J., Cárdenas, M., & Jiménez, P. (2013). *Especies de Alternaria de la sabana*. Recuperado el 10 de Octubre de 2018, de Universidad Militar Nueva Granada: https://revistas.unimilitar.edu.co/index.php/rfcb/article/viewFile/361/152
- Sistema de Información Nacional de Agricultura, Ganaderia, Acuacultura y Pesca. (2015). Cultivo de haba. *Boletin situacional haba*. Obtenido de Coordinación General del Sistema de Información Nacional: Recuperado el 09 de Noviembre de 2018, de http://sinagap.agricultura.gob.ec/phocadownloadpap/cultivo/2016/boletin\_situacional\_h aba\_2015.pdf
- Soria, A. M. (2015). *Caracterización morfológica de hongos*. Recuperado el 11 de Noviembre de 2018, de http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/2540/1/T-UTC-00077.pdf
- Tapia, M. E. (2007). Guía de Campo de los Cultivos Andinos. *Cadmo*. Recuperado el 09 de Noviembre de 2018, de Guía de Campo de los Cultivos Andinos.
- Tenorio, R., Terrazas, E., Alvarez M. A, & Vila J.L. (2010). Concentrados de saponina de Chenopodium quinoa y de Caiphora andina: alternativas como biocontroladores de hongos fitopatógenos. *Revista Boliviana de Quinoa*, *Sicelo 27 (1), 40*
- Troisi, J., Fiore, R., & Pulvento, C. (2014). *Saponinas*. FAO (Santiago de Chile y CIRAD, (Montpellier, Francia): Laboratorio Chimico Merceologico, CNR, Universidad de la Serena y Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas).
- Universidad Mayor San Simón. (2008). Manchas foliares del haba. *cebem.org*. Recuperado el 11 de Noviembre de 2017, de cebem.org: http://cebem.org/cmsfiles/publicaciones/manchas\_foliares\_del\_haba.pdf
- Vargas Díaz, A. (2009). *Alternativas naturales para el control d haba*. Recuperado el 16 de Octubre de 2017, de Centro de investigación cientifica de yucatán, A.C: https://cicy.repositoM\_Tesis\_Arely\_Vargas.pdf
- Waaijenber, H., & Caro, M. (2000). *Programa Nacional de Leguminosas de Grano* (Cochabamba ed.). Bolivia.

# IX. <u>ANEXOS.</u>

Anexo 1. Contenido de humedad y fibra del proceso industrial de escarificado de la quinua.

Anexo 2. Análisis Físico-Químico de agua residual después del lavado-salida de la centrífuga.

# CESTTA

#### CENTRO DE SERVICIOS TÉCNICOS Y TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA AMBIENTAL

#### DEPARTAMENTO : LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL E INSPECCIÓN (LABCESTTA)

Panamericana Sur Km. 1 %, ESPOCH (Facultud de Ciencias) RIOBAMBA - ECUADOR Telefax: (03) 3013183



INFORME DE ENSAYO No:

ST

Nombre Peticionario:

Atn. Dirección:

FECHA:

NUMERO DE MUESTRAS:

FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB:

FECHA DE MUESTREO: FECHA DE ANÁLISIS: TIPO DE MUESTRA; CÓDIGO LABCESTTA; CÓDIGO DE LA EMPRESA;

PUNTO DE MUESTREO: ANÁLISIS SOLICITADO:

PERSONA QUE TOMA LA MUESTRA: CONDICIONES AMBIENTALES DE ANÁLISIS: 1818

723 -15 ANÁLISIS DE AGUAS

M.C.CH.

Rumichaca y Moro Moro Hernán Sánchez Riobamba- Chimborazo

15 de Diciembre del 2015

1

2015/12/04 - 11:14 2015/12/04 - 10:30 2015/12/04 - 2015/12/15

Agua residual LAB-A 1447-15 Agua después del lavado Salida de la centrifuga Físico- Químico

Hernán Sánchez

T máx.:25.0 °C. T min.: 15.0 °C

#### RESULTADOS ANALÍTICOS:

PARÁMETROS	MÉTODO /NORMA	UNIDAD	RESULTADO	INCERTIDUMBRE (k=2)	VALOR LIMITE PERMISIBLE (=)
Nitratos	PEE/LABCESTTA/16 Standard Methods No 4500 -NO <sub>3</sub> -B	mg/L	5,29	±15%	*
Sólidos Totales	PEE/LABCESTTA/10 Standard Methods No. 2540 B	mg/L	1600	±6%	-
Sólidos Totales Disueltos	PEE/LABCESTTA/11 Standard Methods No. 2540 C	mg/L	492	±11%	-
Demanda Química de Oxigeno	PEE/LABCESTTA/09 Standard Methods No. 5220 D	mg/L	>1500	±8%	-
Demanda Bioquímica de Oxigeno (5dias)	PEE/LABCESTTA/46 Standard Methods No. 5210 B	mg/L	1150	±15%	
Tensoactivos	PEE/LABCESTTA/44 Standard Methods No. 5540 C	mg/L	1,10	1,10 ±7%	

#### OBSERVACIONES:

Muestra receptada en el laboratorio.

RESPONSABLE DEL INFORME:

IABORATORIO DE ANALISIS AMERIKAI
E MISPECCION
EAB - CESTYA
E BPO CH

Dr. Mauricio Álvarez RESPONSABLE TÉCNICO

Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio. Los resultados arriba indicados sólo están relacionados con los objetos ensayados MC01-14

Página 1 de 1 Edición 5

Nota: CESTTA. 2015

Anexo 3. Composición química de la quinua según diferentes autores.

Componente						
Proteína g/100g	11.2	14.4	14.1	14.5		
Grasa cruda g/100g	4.0	6.0	9.7	5.2		
Fibra g/100g	n.d.	4.0	n.d.	14.2**		
Ceniza g/100g	3.0	2.9	3.4	2.7		
Carbohidratos g/100g	32.6*	72.6	72.5	64.2		

Nota: (Repo, 2014)

n.d. = no determinado

Anexo 4. Contenido de aminoácidos en el grano andino (g. amino ácido/16 g N) (13)

Aminoácido	Quinua	Aminoácido	Quinua
Ácido aspártico	7.8	Tirosina*	2.5
Treonina*	3.4	Fenilalanina*	3.7
Serina	3.9	Lisina*	5.6
Ácido Glutámico	13.2	Histidina*	2.7
Prolina	3.4	Arginina	8.1
Glicina	5.0	Metionina*	3.1
Alanina	4.1	Cisteina*	1.7
Valina*	4.2	Triptofano*	2.05
Isoleucina*	3.4	% N del grano 12.8	
Leucina*	6.1	% proteína	

Nota: (Repo, 2014)

Anexo 5. Contenido de minerales en la quinua.

Mineral	(mg/kg base	(%)	(mg/kg	(mg/100 g)	(mg/ 100 g	(mg/100
	seca)		muestra)		base seca)	g)
Calcio	200-3900	0.1020	860	86.3	32.9	56.5
Magnesio	1300-4600	n.d.	2320	502	206.8	176.0
Sodio	12-425	0.06125	930		n.d.	26.6
Fósforo	1290-6300	0.140	220	411	n.d.	468.9
Hierro	5-321	0.01050	26	15	5.5	14.0
Cobre	6-87	n.d.	76		n.d.	0.2
Zinc	12-99	n.d.	38	4	1.8	2.8
Potasio	5000-19800	0.82250	7140	732	n.d.	1193.0

Nota: (Repo, 2014)

<sup>\*</sup> Contenido de almidón

<sup>\*\*</sup> Fibra dietaria

Anexo 6. Contenido de vitaminas en la quinua.

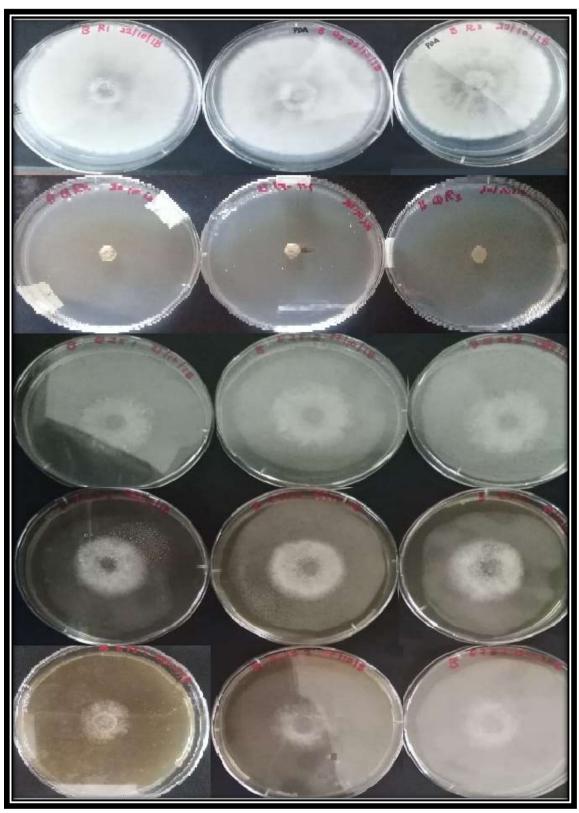
Vitamina					
Tiamina (mg/100 g grano)	0.4	n.d.	n.d.		
Rboflavina (mg/100 g grano)	0.2	n.d.	n.d.		
Ácido fólico (µg/100 g grano)	78.1	n.d.	n.d.		
Vitamina C (mg/100 g grano)	16.4	12-13			
α-tocoferol (mg/100 g grano)	2.6	n.d.	24.7*		
Vitamina A (mg RE/100 g)	0.2	n.d.	n.d.		

Nota: (Repo, 2014)

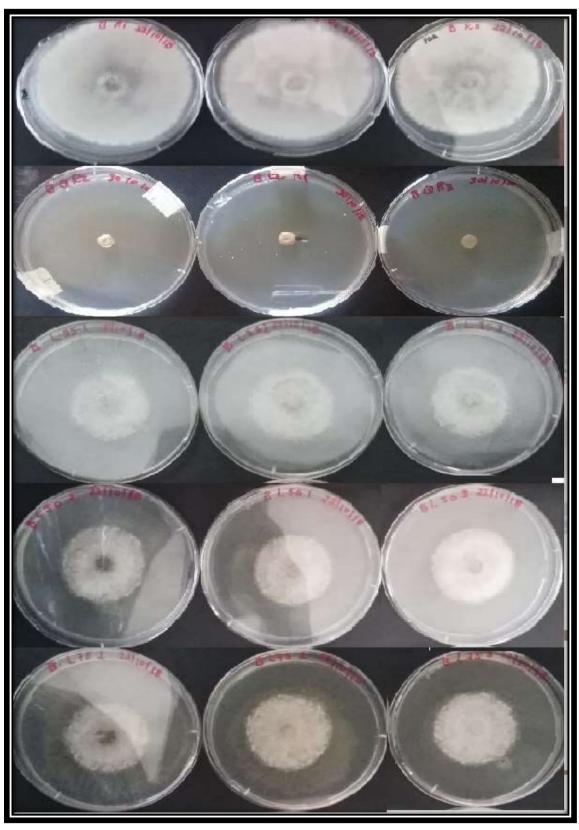
Anexo 7. a) Recolección de muestras en campo. b) Aislamiento de los hongos fitopatógenos. c) Identificación del patógeno. d) *Botrytis fabae*-40 X. e) *Alternaria* sp.-40 X.



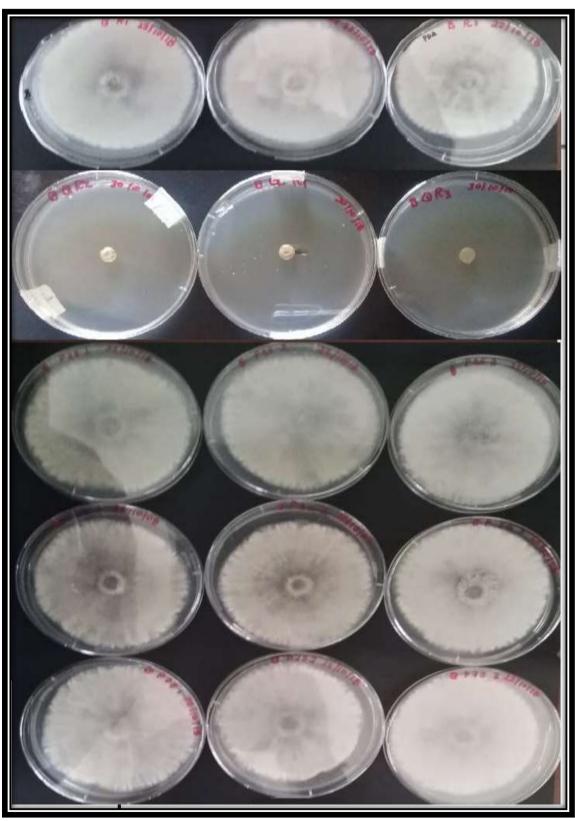
Anexo 8. Tasa decrecimiento e inhibición micelial del hongo *Botrytis fabae* en medio sintético a las 96 horas de establecido el ensayo, con la formulación del PDA más los residuos del lavado obtenido por el proceso de escarificación al 25%, 50% y 75%.



Anexo 9. Tasa de crecimiento e inhibición micelial del hongo *Botrytis fabae* en medio sintético a las 96 horas de establecido el ensayo, con la formulación del PDA más residuos del lavado obtenido del polvo por el proceso de escarificación al 25%, 50% y 75%.



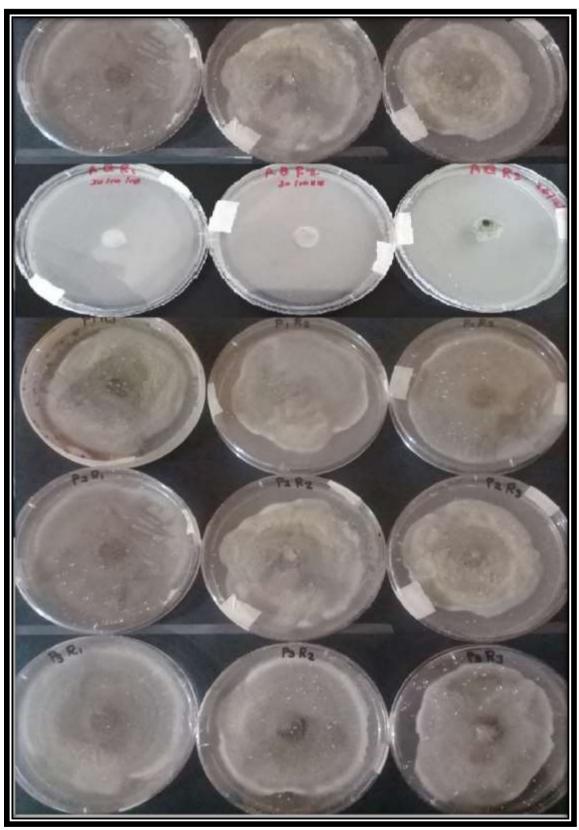
Anexo 10. Tasa de crecimiento e inhibición micelial del hongo *Botrytis fabae* en medio sintético a las 96 horas de establecido el ensayo, con la formulación del PDA más residuos obtenidos por el proceso de lavado de la semilla al 25%, 50% y 75%.



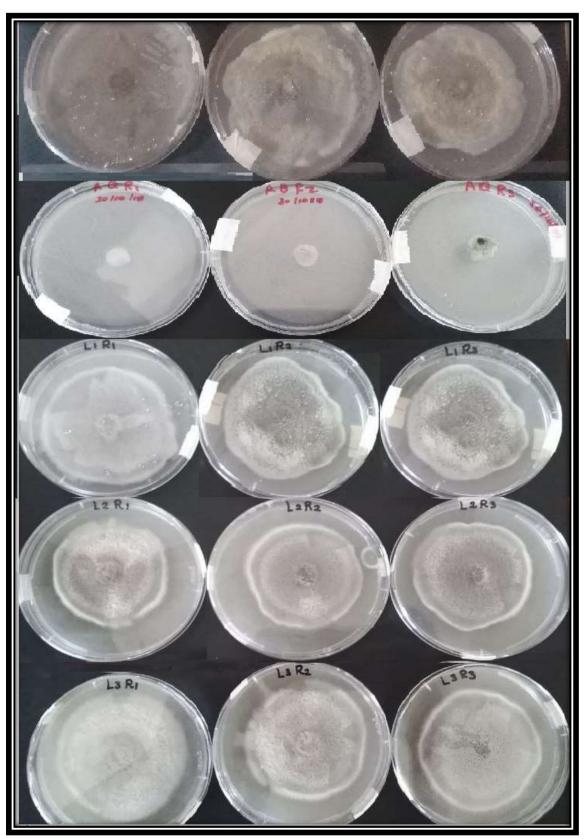
Anexo 11. Tasa de crecimiento e inhibición micelial del hongo *Alternaria* sp., en medio sintético a las 288 horas de establecido el ensayo, con la formulación del PDA más los residuos del lavado obtenido por el proceso de escarificación al 25%, 50% y 75%.



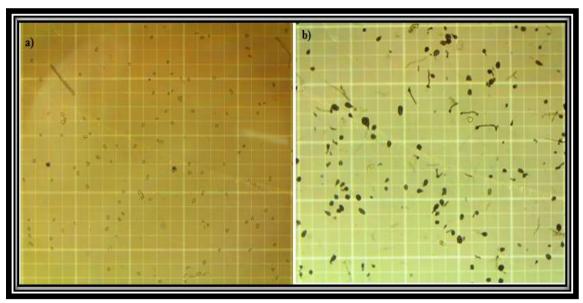
Anexo 12. Tasa de crecimiento e inhibición micelial del hongo *Alternaria* sp. en medio sintético a las 288 horas de establecido el ensayo, con la formulación del PDA más residuos del lavado obtenido del polvo por el proceso de escarificación al 25%, 50% y 75%.



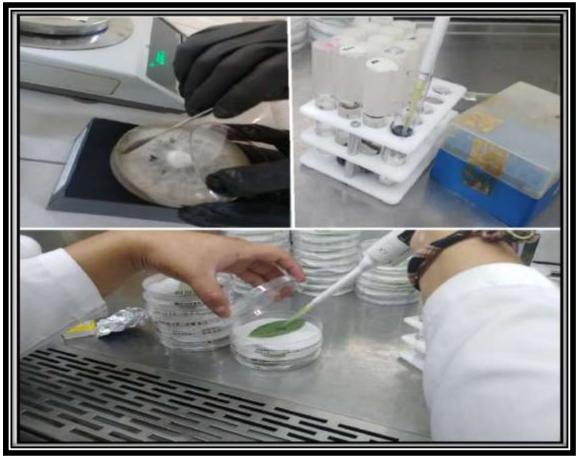
Anexo 13. Tasa de crecimiento e inhibición micelial del hongo *Alternaria* sp., en medio sintético a las 288 horas de establecido el ensayo, con la formulación del PDA más residuos obtenidos por el proceso de lavado de la semilla al 25%, 50% y 75%.



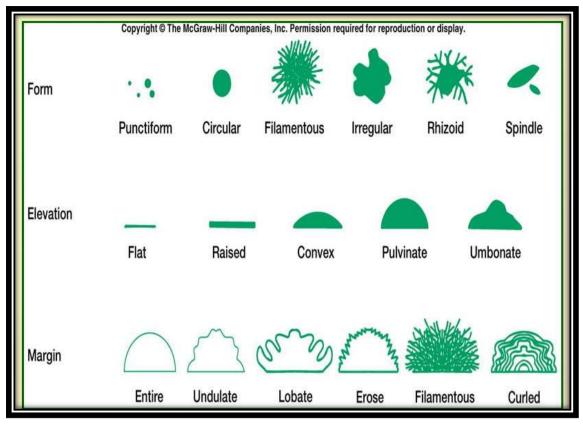
Anexo 14. Conteo del número de esporas en la Cámara de Neubauer. a) *Botrytis fabae*. 107 esporas b) *Alternaria* sp. 108 esporas



Anexo 15. Preparación de una suspensión conocida de esporas  $1x10^5$  conidios/ml, e inoculación de  $10\,\mu l$  de dicha suspensión con la micropipeta en hojas sanas de *Vicia faba*.



Anexo 16. Morfología y crecimiento de las colonias para Botrytis fabae y Alternaria sp.



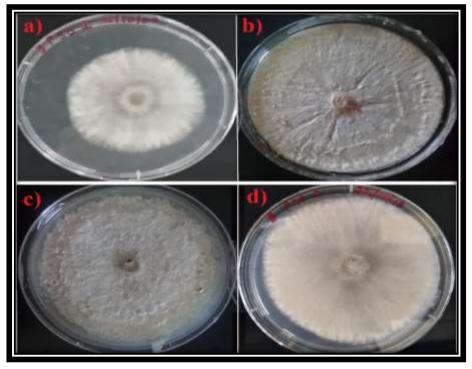
Nota: (Claudia, 2009)

Anexo 17. Escala de colores utilizados para la identificación del color de la colonia del hongo. a) *Botrytis fabae.* b) *Alternaria* sp.

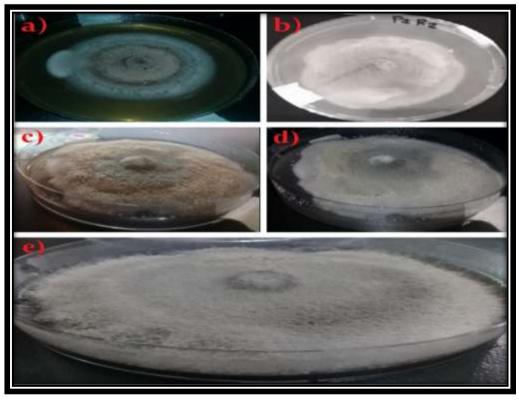
a) white	pearl	alabaster	snow	b) Verde	Cartuja	Enebro	Salvia
ivory	cream	egg shell	cotton	Lima	Helecho	Oliva	Esmeralda
chiffon	salt	lace	coconut	Pera	Musgo	Trébol	Espuma de mar
linen	bone	daisy	powder	Pino	Periquito	Menta	Alga
frost	porcelain	parchment	rice	Escabeche	Pistacho	Albahaca	Cocodrilo

Nota: (Pinterest.com, 2018)

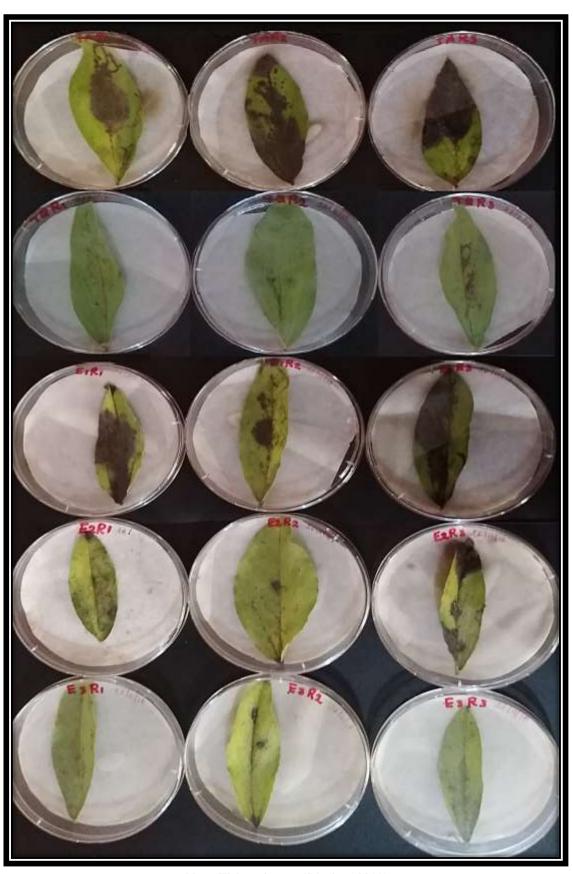
Anexo 18. Morfología y crecimiento de la colonia *Botrytis fabae*. a) Forma circular. b) Elevación plana. c) Margen ondulado. d) Color blanco algodonoso.



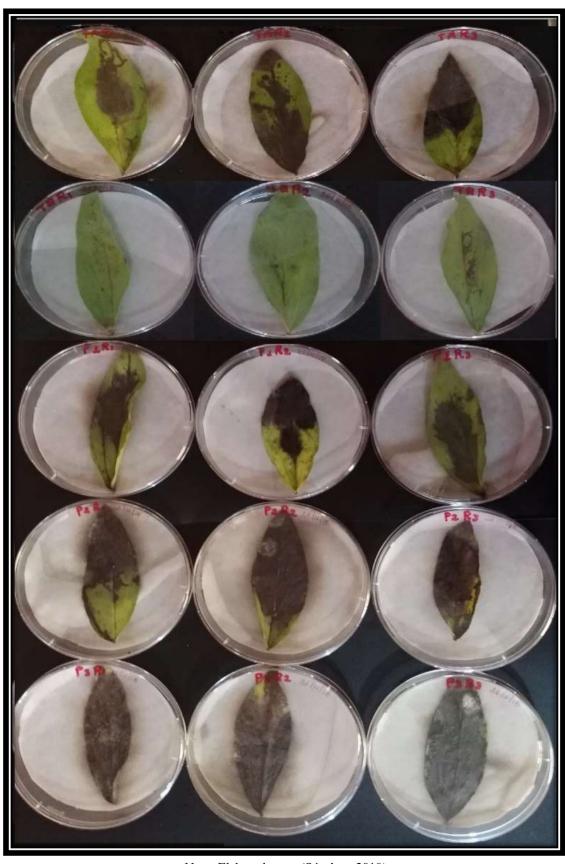
Anexo 19. Morfología y crecimiento de la colonia *Alternaria* sp. a) Forma circular. b) Forma Irregular. c) Elevación Umbonada. d) Margen ondulado. e) Color verde salvia



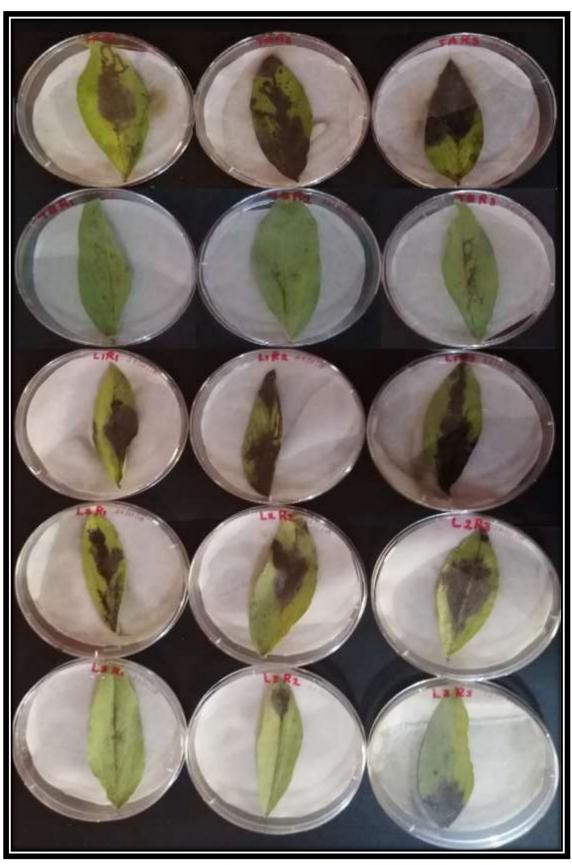
Anexo 20. Comparación de la severidad con *Botrytis fabae* en la hoja de *Vicia faba* inmersa en la solución de los residuos del lavado obtenido por el proceso de escarificación al 25%, 50% y 75%.



Anexo 21. Comparación de la severidad con *Botrytis fabae* en la hoja de *Vicia faba* inmersa en la solución de los residuos del lavado obtenido del polvo por el proceso de escarificación al 25%, 50% y 75%.



Anexo 22. Comparación de la severidad con *Botrytis fabae* en la hoja de *Vicia faba* inmersa en la solución de los residuos obtenidos por el proceso de lavado de la semilla al 25%, 50% y 75%.



Anexo 23. Comparación de la severidad con *Alternaria* sp. en la hoja de *Vicia faba* inmersa en la solución de los residuos del lavado obtenido por el proceso de escarificación al 25%, 50% y 75%.



Anexo 24. Comparación de la severidad con *Alternaria* sp. en la hoja de *Vicia faba* inmersa en la solución de los residuos del lavado obtenido del polvo por el proceso de escarificación al 25%, 50% y 75%



Anexo 25. Comparación de la severidad con *Alternaria* sp. en la hoja de *Vicia faba* inmersa en la solución de los residuos obtenidos por el proceso de lavado de la semilla al 25%, 50% y 75%.

