



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA DE INGENIERÍA FORESTAL

**EVALUACIÓN DEL BIOPRODUCTO A BASE DE SAPONINAS
PARA INHIBIR HONGOS FITOPATÓGENOS PRESENTES A
NIVEL DE VIVERO, FACULTAD DE RECURSOS NATURALES,
ESPOCH.**

Trabajo de titulación

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA FORESTAL

AUTORA: LADY MAGALY PINZA GUALPA

DIRECTORA: Dra. ROSA DEL PILAR CASTRO GÓMEZ PhD.

Riobamba – Ecuador

2021

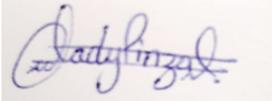
© 2021, Lady Magaly Pinza Gualpa

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

Yo, Lady Magaly Pinza Gualpa, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 19 de marzo de 2021

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Lady Pinza', with a small '20' written below the first part of the signature.

Lady Magaly Pinza Gualpa

100358503-9

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES

CARRERA DE INGENIERÍA FORESTAL

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de titulación: Tipo: Proyecto de Investigación, **EVALUACIÓN DEL BIOPRODUCTO A BASE DE SAPONINAS PARA INHIBIR HONGOS FITOPATÓGENOS PRESENTES A NIVEL DE VIVERO, FACULTAD DE RECURSOS NATURALES, ESPOCH**, realizado por la señorita: **LADY MAGALY PINZA GUALPA**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del trabajo de titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Miguel Angel Gualpa Calva PRESIDENTE DEL TRIBUNAL	 MIGUEL GUALPA Firmado digitalmente por MIGUEL GUALPA Fecha: 2021.08.05 10:02:37 -05'00'	2021-03-19
Dra. Rosa del Pilar Castro Gómez PhD. DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	 ROSA DEL PILAR CASTRO GOMEZ Firmado electrónicamente por:	2021-03-19
Ing. Juan Hugo Rodríguez Guerra MIEMBRO DEL TRIBUNAL	 JUAN HUGO RODRIGUEZ GUERRA Firmado digitalmente por JUAN HUGO RODRIGUEZ GUERRA Fecha: 2021.08.10 14:21:50 -05'00'	2021-03-19

DEDICATORIA

A los que ya no están conmigo, y me acompañan siempre en el corazón. A mi madre que con su humildad y esfuerzo siempre me ha animado a seguir adelante y ser una buena persona. A toda la familia Morales Gualpa que se ha hecho presente en todo este transcurso, pero en especial a mis tíos Aida y Rubén con quienes he compartido casi toda mi vida y hoy los considero mi segundo hogar. A mi pareja Jerson por compartir todo este tiempo y experiencia junto de mi mano. A mi prima Emily que siempre estuvo ahí con un mensaje y a quien quiero mucho.

Lady

AGRADECIMIENTO

A toda mi familia por el amor, la confianza y el esfuerzo que realizan por ver cumplir mi sueño y que día a día me motivan a seguir mejorando.

A mis amig@s quienes de alguna u otra forma me han ayudado y me han demostrado una amistad verdadera.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por darme la oportunidad de obtener una profesión y ser una ayuda para la sociedad.

A la Dra. Rosita Castro, Dra. Hortensita Díaz, Ing. Hugo Rodríguez quienes estuvieron junto a mí apoyándome con sus conocimientos y dedicándome un poco de su tiempo para llevar a cabo esta investigación y sobre todo agradecerle a la Ing. Rosita por su confianza, paciencia, solidaridad y cariño para conmigo no solo en lo académico sino también en la cancha gracias por formar parte de las Mikey's y levantar muchas veces la copa con nosotras CAMPEONAS SIEMPRE.

Lady

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
RESUMEN	xv
SUMMARY	xvi
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1	MARCO TEÓRICO	5
1.1	Saponinas.....	5
1.1.1	<i>Composición química.....</i>	5
1.1.2	<i>Determinación del contenido</i>	6
1.1.3	<i>Cuantificación de saponinas.....</i>	7
1.1.4	<i>Propiedades y usos</i>	7
1.2	La quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd) en el Ecuador	7
1.2.1	<i>Saponinas de quinua (Chenopodium quinoa Willd)</i>	8
1.3	Método de extracción Soxhlet	10
1.3.1	<i>Funcionamiento</i>	10
1.3.2	<i>Ventajas</i>	11
1.3.3	<i>Desventajas</i>	12
1.4	Damping-off.....	12
1.4.1	<i>Diagnóstico</i>	12
1.4.1.1	<i>Pre-emergente.....</i>	12
1.4.1.2	<i>Post-emergente</i>	12
1.4.2	<i>Distribución.....</i>	13
1.4.3	<i>Agentes causales</i>	13
1.4.4	<i>Manejo de la enfermedad.....</i>	13
1.5	Tipo de plaga	14
1.5.1	<i>Fusarium sp.</i>	14
1.5.1.1	<i>Taxonomía</i>	14
1.5.1.2	<i>Características morfológicas</i>	15

1.5.1.3	<i>Patogénesis y síntomas</i>	15
1.5.2	<i>Rhizoctonia sp.</i>	16
1.5.2.1	<i>Taxonomía</i>	16
1.5.2.2	<i>Características morfológicas</i>	17
1.5.2.3	<i>Patogénesis y síntomas</i>	17
1.5.3	<i>Pythium sp.</i>	18
1.5.3.1	<i>Taxonomía</i>	18
1.5.3.2	<i>Características morfológicas</i>	18
1.5.3.3	<i>Patogénesis y síntomas</i>	19
1.5.4	<i>Botrytis sp.</i>	19
1.5.4.1	<i>Taxonomía</i>	19
1.5.4.2	<i>Características morfológicas</i>	20
1.5.4.3	<i>Patogénesis y síntomas</i>	20
1.5.5	<i>Alternaria sp.</i>	21
1.5.5.1	<i>Taxonomía</i>	21
1.5.5.2	<i>Características morfológicas</i>	21
1.5.5.3	<i>Patogénesis y síntomas</i>	22
1.6	Guarango (<i>Caesalpinia spinosa</i>)	22
1.6.1	<i>Clasificación taxonómica</i>	22
1.6.2	<i>Características botánicas</i>	23
1.6.2.1	<i>Hojas</i>	23
1.6.2.2	<i>Flores</i>	23
1.6.2.3	<i>Fuste</i>	23
1.6.2.4	<i>Frutos</i>	24
1.6.3	<i>Plagas y enfermedades</i>	24

CAPÍTULO II

2	MARCO METODOLÓGICO	26
2.1	Hipótesis y especificación de variables	26
2.1.1	<i>Hipótesis</i>	26
2.1.1.1	<i>Hipótesis Nula –H0</i>	26
2.1.1.2	<i>Hipótesis Alternante – H1</i>	26
2.1.2	<i>Variables</i>	26
2.1.2.1	<i>Variable dependiente</i>	26
2.1.2.2	<i>Variable independiente</i>	26

2.1.2.3	<i>Variables intervinientes</i>	26
2.2	Características del campo experimental	26
2.2.1	<i>Localización</i>	27
2.2.2	<i>Ubicación geográfica</i>	27
2.2.3	<i>Características climáticas</i>	27
2.3	Materiales y Equipos	27
2.3.1	<i>Materiales de laboratorio</i>	27
2.3.2	<i>Materiales de campo</i>	27
2.3.3	<i>Materiales de oficina</i>	28
2.3.4	<i>Insumos</i>	28
2.4	Metodología	28
2.4.1	<i>Factores en estudio</i>	28
2.4.1.1	<i>Factor A: Concentración del bioproducto</i>	28
2.4.1.2	<i>Factor B: Hongos fitopatógenos</i>	28
2.4.2	<i>Tipo de diseño</i>	28
2.4.3	<i>Especificaciones del campo experimental</i>	29
2.4.4	<i>Análisis estadístico</i>	29
2.5	Técnica de evaluación y recolección de datos	30
2.5.1	<i>Fase de laboratorio</i>	30
2.5.1.1	<i>Estimación de la concentración de saponina de la semilla y cáscara de quinua (Chenopodium quinoa Willd) mediante el método afrosimétrico</i>	30
2.5.1.2	<i>Extracción de saponinas de la semilla de quinua (Chenopodium quinoa Willd) mediante el método Soxhlet</i>	31
2.5.1.3	<i>Preparación de las concentraciones a partir del extracto acuoso de saponinas de quinua (Chenopodium quinoa Willd)</i>	31
2.5.1.4	<i>Identificación de los hongos fitopatógenos (Fusarium sp., Rhizoctonia sp., Pythium sp., Botrytis sp.)</i>	32
2.5.2	<i>Fase de campo</i>	33
2.5.2.1	<i>Altura de las plantas</i>	33
2.5.2.2	<i>Porcentaje de sobrevivencia</i>	33
2.5.2.3	<i>Porcentaje de intensidad de ataque</i>	33
2.5.2.4	<i>Porcentaje de incidencia de ataque</i>	33
2.6	Manejo de la investigación	34
2.6.1	<i>Establecimiento de la parcela</i>	34
2.6.2	<i>Identificación de los tratamientos y rotulación</i>	34
2.6.3	<i>Riego</i>	34
2.6.4	<i>Aplicación del bioproducto</i>	34
2.6.5	<i>Deshierbe</i>	34

CAPÍTULO III

3	MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN	35
3.1	Resultado de la estimación de la concentración de saponinas de la semilla cáscara de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd) por el método afrosimétrico	35
3.2	Obtención del extracto de saponinas mediante el método Soxhlet a partir de la semilla de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd)	36
3.3	Resultados de la preparación de las concentraciones a partir del extracto acuoso de saponinas de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd)	36
3.4	Identificación macroscópica y microscópica de los hongos fitopatógenos	36
3.4.1	<i>Fusarium</i> sp.....	36
3.4.2	<i>Rhizoctonia</i> sp.....	37
3.4.3	<i>Pythium</i> sp.	37
3.4.4	<i>Botrytis</i> sp.....	38
3.5	Altura de las plantas a los 8, 15 y 45 días después de la climatización	38
3.5.1	<i>Altura a los 8 días en cm</i>	38
3.5.2	<i>Altura a los 15 días en cm</i>	40
3.5.3	<i>Altura a los 45 días en cm</i>	41
3.6	Porcentaje de sobrevivencia	43
3.7	Intensidad del ataque a los 45 días	43
3.8	Porcentaje de incidencia del ataque	44
3.9	Evaluación a nivel de vivero de la actividad antifúngica del bioproducto a base de saponinas de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd) frente a los hongos fitopatógenos (<i>Fusarium</i> sp., <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Pythium</i> sp., <i>Botrytis</i> sp.)	44
3.9.1	<i>Evaluación de la actividad antifúngica del bioproducto frente a Fusarium sp.</i>	44
3.9.2	<i>Evaluación de la actividad antifúngica del bioproducto frente a Rhizoctonia sp.</i> ...	46
3.9.3	<i>Evaluación de la actividad antifúngica del bioproducto frente a Pythium sp.</i>	47
3.9.4	<i>Evaluación de la actividad antifúngica del bioproducto frente a Botrytis sp.</i>	48
	CONCLUSIONES	50
	RECOMENDACIONES	51
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1:	Clasificación taxonómica de <i>Fusarium</i> sp.	15
Tabla 2-1:	Clasificación taxonómica de <i>Rhizoctonia</i> sp.	17
Tabla 3-1:	Clasificación taxonómica de <i>Pythium</i> sp.	18
Tabla 4-1:	Clasificación taxonómica de <i>Botrytis</i> sp.	20
Tabla 5-1:	Clasificación taxonómica de <i>Alternaria</i> sp.	21
Tabla 6-1:	Clasificación taxonómica de <i>Caesalpinia spinosa</i>	23
Tabla 1-2:	Número de tratamientos a evaluar el efecto del bioproducto a base de saponinas de (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd) sobre cuatro hongos fiopatógenos	29
Tabla 2-2:	Escala de intensidad de ataque.	33
Tabla 1-3:	Estimación de la concentración de saponinas por el método afrosimétrico.	35
Tabla 2-3:	Concentración porcentual de saponinas para cada tratamiento.	36
Tabla 3-3:	Análisis de varianza para la variable altura a los 8 días en cm.	39
Tabla 4-3:	Análisis de varianza para la variable altura a los 15 días en cm.	41
Tabla 5-3:	Análisis de varianza para la variable altura a los 45 días en cm.	42
Tabla 6-3:	Análisis de varianza para la variable intensidad del ataque.	44
Tabla 7-3:	Porcentaje de inhibición del hongo <i>Fusarium</i> sp. presente en las concentraciones del bioproducto a base de saponinas frente al testigo	45
Tabla 8-3:	Porcentaje de inhibición del hongo <i>Rhizoctonia</i> sp. presente en las concentraciones del bioproducto a base de saponinas frente al testigo	46
Tabla 9-3:	Porcentaje de inhibición del hongo <i>Pythium</i> sp. presente en las concentraciones del bioproducto a base de saponinas frente al testigo	47
Tabla 10-3:	Porcentaje de inhibición del hongo <i>Botrytis</i> sp. presente en las cocentraciones del bioproducto a base de saponinas frente al testigo	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1:	Estructura general de una saponina.	6
Figura 2-1:	Planta de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.	8
Figura 3-1:	Esqueleto base de las saponinas identificadas en la <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.	9
Figura 4-1:	Extracción por el método Soxhlet.	11
Figura 5-1:	Morfología de <i>Fusarium</i> sp.	15
Figura 6-1:	Morfología de <i>Rhizoctonia</i> sp.	17
Figura 7-1:	Morfología de <i>Pythium</i> sp.	19
Figura 8-1:	Morfología de <i>Botrytis</i> sp.	20
Figura 9-1:	Morfología de <i>Alternaria</i> sp.	22
Figura 10-1:	Ramas y frutos de <i>Caesalpinia spinosa</i>	24
Figura 1-2:	Concentraciones a base del extracto de saponinas de quinua.	32
Figura 1-3:	Identificación de <i>Fusarium</i> sp.	37
Figura 2-3:	Identificación de <i>Rhizoctonia</i> sp.	37
Figura 3-3:	Identificación de <i>Pythium</i> sp.	38
Figura 4-3:	Identificación de <i>Botrytis</i> sp.	38

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3:	Altura de las plantas a los 8 días.	39
Gráfico 2-3:	Altura de las plantas a los 15 días.	40
Gráfico 3-3:	Altura de las plantas a los 45 días.	41
Gráfico 4-3:	Comparación de la variable altura a los 8, 15 y 45 días.	42
Gráfico 5-3:	Intensidad del ataque a los 45 días.	43
Gráfico 6-3:	Curva de regresión lineal de <i>Fusarium</i> sp. frente al bioproducto a base de saponinas de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd)	45
Gráfico 7-3:	Curva de regresión lineal de <i>Rhizoctonia</i> sp. frente al bioproducto a base de saponinas de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd)	46
Gráfico 8-3:	Curva de regresión lineal de <i>Pythium</i> sp. frente al bioproducto a base de saponinas de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd)	47
Gráfico 9-3:	Curva de regresión lineal de <i>Botrytis</i> sp. frente al bioproducto a base de saponinas de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd)	49

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A: Distribución del diseño experimental.

Anexo B: Croquis de la distribución de los tratamientos en la parcela.

Anexo C: Altura de las plantas a los 8 días.

Anexo D: Altura de las plantas a los 15 días.

Anexo E: Altura de las plantas a los 45 días.

Anexo F: Intensidad del ataque.

Anexo G: Evidencias fotográficas.

RESUMEN

El presente trabajo de titulación tuvo como objetivo evaluar un bioproducto a base de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd), para inhibir hongos fitopatógenos (*Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp.) presentes en plantas de guarango (*Caesalpinia spinosa*) a nivel de vivero. Se aplicó el método afrosimétrico para determinar la existencia de saponinas en *Chenopodium quinoa* Willd y verificar que pertenezcan a una variedad amarga, a partir de esto se obtuvo el extracto de saponinas mediante el método Soxhlet. Se prepararon las concentraciones al 100%, 75%, 50% y 25% a partir del extracto de saponinas más agua y se aplicaron a los tratamientos en campo a los 8 y 15 días después de la climatización y se procedió al registro de datos a los 45 días. Se estableció un diseño de bloques completos al azar en arreglo factorial 4 x 4 + 1, se aplicó un análisis de varianza para las variables altura e intensidad del ataque y un análisis de regresión lineal para establecer la dosis adecuada frente a cada hongo fitopatógeno. Los resultados obtenidos demostraron que el bioproducto presenta mayor porcentaje de inhibición para *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Botrytis* sp. con un valor de 92.31%, para *Fusarium* sp. el porcentaje de inhibición fue bajo con un valor de 71.79% en la concentración del 25% (75 ml extracto de saponinas + 25 ml de agua). Se recomienda realizar pruebas de inhibición de las saponinas frente a otros hongos fitopatógenos.

Palabras clave: < FITOPATOLOGÍA >, < BIOPRODUCTO >, < CONCENTRACIONES DE SAPONINAS >, <QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd) >, < HONGOS FITOPATÓGENOS >, < MÉTODO SOLHLET>, < GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*)>

ABSTRACT

This research aimed to evaluate a bioproduct based on quinoa saponins (*Chenopodium quinoa* Willd) in order to inhibit phytopathogenic fungi (*Fusarium sp.*, *Rhizoctonia sp.*, *Pythium sp.*, *Alternaria sp.*) which are present in guarango plants (*Caesalpinia spinosa*) at the nursery level. The afrosymmetric method was applied to determine the existence of saponins in *Chenopodium quinoa* Willd and verify that they belong to a bitter variety; the saponin extract was obtained by the Soxhlet method from this. The concentrations at 100%, 75%, 50% and 25% were prepared from the saponin extract plus water and were applied to the field treatments at 8 and 15 days after air conditioning and the data was recorded at the 45 days. A randomized complete block design was established in a 4 x 4 + 1 factorial arrangement, an analysis of variance was applied for the height and intensity of the attack variables and a linear regression analysis to establish the appropriate dose against each phytopathogenic fungus. The results obtained showed that the bioproduct had a higher percentage of inhibition for *Rhizoctonia sp.*, *Pythium sp.*, *Botrytis sp.* with a value of 92.31%, the inhibition percentage was low for *Fusarium sp.* with a value of 71.79% in the 25% concentration (75 ml saponin extract + 25 ml of water). It was recommended to perform saponin inhibition tests against other phytopathogenic fungi.

Key words: <PHYTOPATHOLOGY>, <BIOPRODUCT>, <SAPONIN CONCENTRATIONS>, <QUINOA (*Chenopodium quinoa* Willd)>, <PHYTOPATHOGENS FUNGI>, <SOXHLET METHOD> <GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*)>

INTRODUCCIÓN

Identificación del problema

Con el pasar de los últimos años las enfermedades y plagas que afectan a la producción forestal en Sudamérica se ha propagado alarmantemente. Las enfermedades constituyen uno de los cuatro factores principales que determinan la dinámica de los ecosistemas forestales junto con las plagas, el fuego y las condiciones climáticas (Pildain y Errasti, 2011: p.3). Los hongos son el principal agente causal de las enfermedades forestales, alcanzando infestar todas las partes de la planta afectando su funcionamiento en diferentes formas.

El damping off también conocido como mal del talluelo, representa la enfermedad más común y de más amplia distribución en los viveros forestales, generando pérdidas del 10% y llegando a valores del 30% o superiores cuando las condiciones de temperatura y humedad son favorables y si no se adopta medidas de control rápidas, las pérdidas pueden llegar a ser casi totales (Quiroz et al., 2009: pp.95-98). Esta enfermedad es producida por una amplia gama de especies fúngicas, algunos de ellos parásitos facultativos habitantes del suelo, entre los géneros más importantes encontramos: *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp., *Pythium* sp., *Phytophthora* sp., *Cylindrocladium* sp., *Botrytis* sp. (CONIF, 2002, p.51; Martín et al., 2001: p.2). Cada género produce síntomas propios; sin embargo, generalmente actúan en forma conjunta, por lo que se recomienda hacer los aislamientos para realizar un diagnóstico certero.

Por otra parte, la utilización de fungicidas químicos durante décadas para el control de enfermedades en vivero ha hecho inminente buscar nuevas alternativas sostenibles, que favorezcan a la reducción del impacto dañino que ocasiona sobre el medio ambiente (Apaza et al., 2016: p.64). El desarrollo basado en la conservación, debe proteger la estructura, función y la diversidad biológica de los sistemas naturales, logrando alcanzar armonía entre el medio ambiente y control de los recursos naturales. Este deterioro ambiental con el tiempo ha conllevado a buscar nuevas metodologías de control, que contribuyan en la prevención o reducción de los efectos; en este sentido, se propuso el uso de fungicidas de procedencia orgánica que ayuden a inhibir ciertas patologías, tal como sucede con las saponinas, debido a las propiedades que presenta, destacándose su efecto insecticida, antifúngico, antiviral y molusquicida (Bonilla et al., 2019a: p.45; Mena et al., 2015: p.108).

La *Chenopodium quinoa* Willd, es una planta originaria de América del Sur, especialmente cultivada en los países ubicados sobre la cordillera de los andes (McCartney et al., 2019: p.126). Presentan una gran variabilidad genética y gran calidad nutritiva siendo muy valorada para la seguridad alimentaria, por lo que el interés en su producción y exportación ha aumentado en los últimos años; sin embargo sus granos presentan ciertas sustancias glucosídicas que interfieren en la utilización biológica de los nutrientes, denominadas saponinas que están presentes fundamentalmente en el tegumento que rodea el epispermo y son las responsables del sabor amargo; (Bonilla et al., 2019b: p.40) su presencia permite distinguir las variedades de quinua como dulces (< 0,11%) o amargas (> 0,11%).

Por otra parte, los cultivos de *Chenopodium quinoa* Willd, dependiendo de su variedad contienen un cierto porcentaje de saponinas (Guzmán et al., 2015a: p.10) que representa un resultado positivo a la hora de eliminar los conidios en los hongos fitopatógenos, al poseer un efecto inhibitorio en los mismos, consiguiendo sustituir numerosos importes de fungicidas químicos que producen variaciones en el medio ambiente y dificultan la preservación de los ecosistemas.

Justificación

En el Ecuador se ha tomado gran relevancia el uso de productos autóctonos de la región, debido entre otras cosas a la responsabilidad social de tener una alimentación sana como es el caso de la quinua, la misma que para ser empleada como alimento debe pasar por un proceso de escarificación, el cual consiste en separar el grano de la episperma, provocando una gran cantidad de residuos que se da por el descascarado, esto podría ser aprovechado conociendo que el episperma contiene grandes cantidades de saponinas, la cual se puede utilizar como mecanismo de control de ciertas plagas, por su actividad antimicrobiana, nematicida, inmunológicas así como agente plaguicida, además de conferir un sabor amargo y poseer factores anti nutricionales (Núñez, 2017, p.7).

Con el pasar de los tiempos se ha logrado identificar que el uso continuo de los fungicidas químicos ha contribuido que surjan nuevas especies de hongos fitopatógenos, generando una cierta resistencia por parte de estos. Esto nos conlleva a la búsqueda de nuevas alternativas que sean amigables con el ambiente y que controlen la propagación; donde el uso de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) conseguiría ser una propuesta factible y a su tiempo se vería beneficiado el aprovechamiento total de los residuos que genera, justificando que con anterioridad ya se han identificado 30 tipos diferentes de saponinas en toda la planta obteniendo un resultado positivo ante la inhibición de hongos (Ahumada et al., 2016a: p.458).

Dada las bondades de las saponinas se podría disminuir el uso de fungicidas químicos, los cuales, si bien pueden controlar la enfermedad del damping, con el pasar del tiempo generan daños ambientales y efectos adversos a las personas al momento de manipular estos productos.

Bajo estos antecedentes, el desarrollo de esta investigación evaluó un bioproducto a base de las saponinas de los residuos que deja el proceso de escarificación de *Chenopodium quinoa* Willd (episperma), y aplicar diferentes dosis para el control de hongos fitopatógenos presentes en vivero.

Los resultados del estudio permitirán justificar la propuesta para evaluar la inhibición de hongos fitopatógenos, que presentó mejores resultados en anteriores investigaciones.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el bioproducto a base de saponinas para inhibir hongos fitopatógenos presentes a nivel de vivero, Facultad de Recursos Naturales, ESPOCH.

Objetivos Específicos

- Establecer la dosis de aplicación más adecuada del bioproducto a base de saponinas para el control de hongos fitopatógenos a nivel de vivero (*Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Botrytis* sp).
- Determinar la frecuencia de aplicación más óptima del bioproducto para inhibir hongos fitopatógenos a nivel de vivero.

CAPÍTULO I

1 MARCO TEÓRICO

1.1 Saponinas

Las saponinas son productos naturales derivados de distintas especies vegetales tales como espinaca (*Spinacia oleracea*), yuca (*Manihot esculenta*), alfalfa (*Medicago sativa*), quinua (*Chenopodium quinoa* Willd), frejol (*Phaseolus vulgaris*), otros; su nombre deriva de la palabra latina sapo que significa “jabón”, se caracteriza, por poseer un sabor amargo y además por la formación de espuma en soluciones acuosas. Las saponinas representan alrededor del 50% del peso total de la molécula entre una aglicona y azúcar (Bojanic, 2011a: p.37; Guzmán et al., 2015b: p.9).

Según Bojanic (2011b: p.37) las saponinas son sustancias orgánicas de origen mixto y se concentran en el exterior de las capas de los granos constituyendo un principal componente antinutricional dentro del grano. Las saponinas manifiestan un conjunto de características bien definidas que se manejan como base para una identificación más rápida: 1) al momento de agitar soluciones acuosas se produce una espuma característica de la reacción de selivoflo empleada en el tamizaje fitoquímico; 2) a partir de la mayoría de saponinas se obtiene la desintegración de los glóbulos rojos, aprovechada en los procesos de cuantificación para la eficacia de las saponinas; 3) causa toxicidad en animales que dependen de la temperatura ambiental, específicamente en los peces (sapotoxinas), produciendo una paraplejia de las agallas; 4) reacción positiva ante la prueba de Liebermann-Burchard. Por lo general, los colores que presentan están sustancias esteroidales son tonalidades entre el azul inclusive puede llegar a verde y las sustancias triterpénicas desde rosado o rojo a violeta. Asimismo, posee diferentes propiedades una de ellas la solubilidad que en general se aplica en diferentes grados de soluciones etanolicas al 80 %, propiedad que es aprovechada en numerosas técnicas para su extracción y desinfección de las saponinas (Hernández, 1997, p.57).

1.1.1 Composición química

Existe una gran variedad de plantas que contiene saponinas, su designación se le atribuye a la utilización de las raíces de la plata saponaria para obtener jabón, entre sus propiedades encontramos que son anfipáticas, químicamente son glucósidos con una sola aglicona (fragmento libre de glucósido) de forma policíclica como una elevación triterpenoide enlazada

a través de un conexión etéreo con el carbono C3 a una sucesión continua de azúcares. A la aglicona se la suele llamar frecuentemente como sapogenina, y al subconjunto de saponinas esteroides como sarapogenina (Augustin et al., 2011: pp.435-457). Al ser percibidas las saponinas como amargas, hace que se disminuya las propiedades organolépticas de los productos que contienen saponinas. Aunque existen varias saponinas (habitualmente aquellas con aglicona triterpenoica) que presentan un buen sabor, que recuerda a la raíz de regaliz.

Las modificaciones bruscas en el pH de las saponinas no soportan valores cercanos a ácidos o básicos causando de inmediato el rompimiento de los enlaces *O*-glucosídicos (Figura 1-1). Esta particularidad es empleada al momento de la cuantificación y esclarecimiento estructural de las saponinas (Zapana, 2019, p.79).

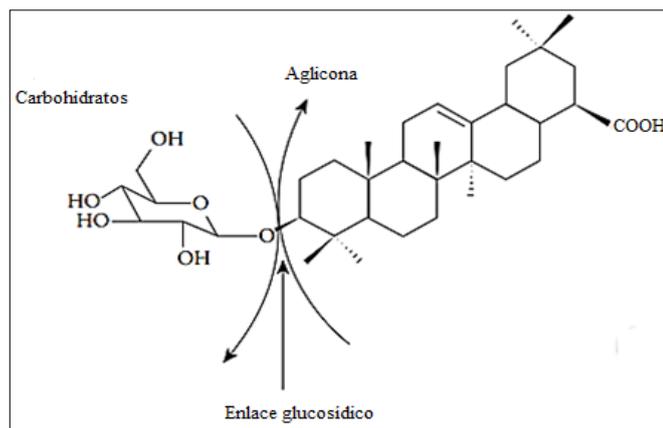


Figura 1-1: Estructura general de una saponina.

Fuente: Ahumada et al., 2016, p.441

Otra de las propiedades de las saponinas es su alta actividad superficial lo que la convierte en un potente detergente natural, agente estabilizante y emulsificador de productos de limpieza y cosméticos, debido a la posición estructural de un conjunto polar (azúcar) o uno conjunto no polar (esteroide o triterpeno), (Gianna, 2013, p.33).

1.1.2 *Determinación del contenido*

Hoy en la actualidad, el contenido de saponinas que queda después del proceso de desamargado presenta resultados con diferencias muy amplias al momento de comparar con procesos de desamargado similares. El inconveniente radica en determinar hasta que porcentajes de saponinas se pueden admitir en los alimentos sin que su sabor amargo interfiera. Es el caso del garbanzo un alimento en el que se admite hasta con el 5% de saponinas, lo contrario ocurre al suponer que este mismo porcentaje lo podamos aplicar en la quinua, debido a que

presentan diferentes estructuras que producen sensaciones desiguales de amargor que es muy complicado al momento de cuantificarlo debido a que las personas presentan diferentes sensibilidades al sabor amargo (Tapia, 2007, p.74).

1.1.3 Cuantificación de saponinas

Para la cuantificación de las saponinas es necesario primero comprobar la presencia de saponinas para ello es conveniente llevar a cabo un procedimiento el cual consiste en ubicar un material vegetal dentro de un tubo de ensayo repleto de agua destilada y sacudir vigorosamente durante 2 minutos (Ncube et al., 2011: p.777). La presencia de espuma firme y constante es indicativa de la aparición de saponinas dentro de un líquido, es común observar la espuma en la parte superior aproximadamente durante unos 15 minutos. La forma más sencilla de cuantificar las saponinas es mediante los métodos espectrofotométricos y cromatográficos.

1.1.4 Propiedades y usos

Según Francis et al (2002a: p.588) el uso de las saponinas ha logrado alcanzar múltiples subproductos para distintas áreas entre ella la farmacéutica tales como: medicamentos para estimular la permeabilidad intestinal, antibióticos. También se utiliza aplicaciones en la elaboración de cosméticos y en la industria alimenticia, además se han realizado investigaciones que proyectaron resultados positivos en cuanto al uso como un insecticida natural para la inhibición de plagas y enfermedades frente a los hongos fitopatógenos (*Fusarium sp*, *Botrytis cinerea*, *Aspergillus* y *Pomacea canaliculata*) mediante la utilización de saponinas (Guzmán et al., 2015c: p.9).

Además poseen propiedades tensoactivas naturales debido a que se reduce la tensión superficial formando soluciones coloidales con el agua, creando una espuma al momento de ser agitada (Bazile et al., 2014a: p.318), esto a causa que las saponinas se manifiestan como agliconas, es decir el terpeno sin azúcar, que al momento de adicionar un grupo hifrofilico a un terpenoide hidrofóbico exhiben su propiedad surfactante. Las saponinas presentan propiedades bioquímicas, acción hemolítica, molusquicida, alelopática, fungicida, insecticida y antimicrobial (Francis et al., 2002b: p.589).

1.2 La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) en el Ecuador

La quinua es una planta herbácea del género *Chenopodium* procedente de América del Sur, distribuida sobre la cordillera de los Andes, desde la parte sur de Colombia pasando por

Ecuador, Perú, Bolivia y la parte norte de Chile. Es en cultivo anual, su mayor producción se da en las zonas rurales (Ahumada et al., 2016b: p.439; Tapia, 1979, p.16).



Figura 2-1: Planta de *Chenopodium quinoa* Willd.

Fuente: Bojanic, 2011, p.20

La quinua en Ecuador, es el alimento más tradicional de la región Sierra incluso desde antes de la llegada de los españoles, tanto por las condiciones agroecológicas, como por la importancia nutricional que posee; (Arias, 2017, p.47) históricamente es el tercer país que realiza investigaciones para promover el rescate y uso de la quinua en la zona andina con el apoyo del INIAP y la FAO.

La producción de quinua se encuentra distribuida en una mayor proporción alrededor de cinco provincias: Carchi 38%, Chimborazo 21%, Cotopaxi 20% y en menor proporción en la provincia de Pichincha e Imbabura con 8%. En la provincia de Chimborazo se cultiva la mayor parte de quinua de forma orgánica específicamente la variedad de quinua nativa que es más amarga que otras variedades debido a su alto contenido de saponina (Silva et al., 2013: pp.35-42).

1.2.1 Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd)

La literatura presenta al menos 30 saponinas triterpénicas presentes en todos los segmentos de la planta tales como: hojas, flores, frutos, semillas y la epidermis de las semillas. Las saponinas de la quinua son estructuralmente compuestos precedidos de la β -amirina (Figura 3-1), que radica en una composición de glucósidos triterpénicos derivados del ácido oleanólico, hederagenina, ácido fitolacagénico, ácido deoxifitolacagénico, ácido serjanico, y ácido $3\beta,23,30$ -trihidroxi olean-12-eno-28-oico, con los grupos hidroxilo y carboxilato en el C-3 y C-28, correspondientemente (Ahumada et al., 2016c: p.447; García et al., 2018: p.242). Las conexiones

glucosídicas se establecen con la arabinosa, glucosa, galactosa, xilosa, ácido glucurónico y la ramnosa (a excepción de metilpentosa).

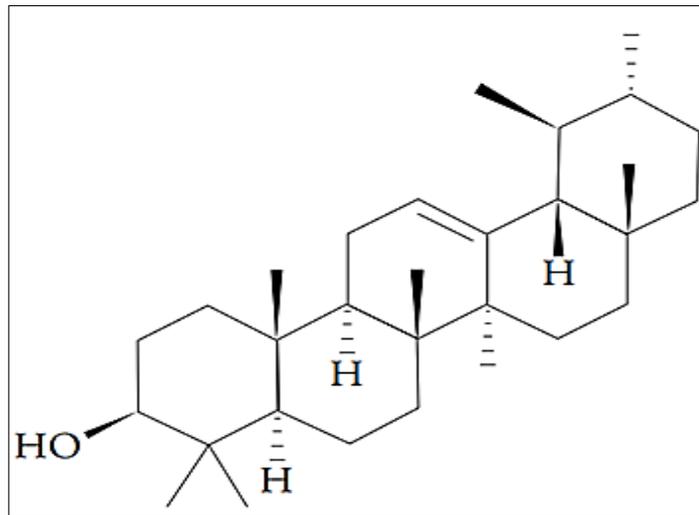


Figura 3-1: Esqueleto base de las saponinas identificadas en la *Chenopodium quinoa* Willd.

Fuente: Ahumada et al., 2016, p.444

El contenido de saponina en la *Chenopodium quinoa* Willd varía entre 0,1 y 5%. El pericarpio (cáscara) del grano de quinua contiene saponina, sustancia que le da un sabor amargo y debe ser eliminada para que el grano pueda ser consumido; tradicionalmente a las semillas de quinua se las pasa por un proceso de desgaste mecánico para retirar la cáscara, lugar en el que se encuentra la mayor parte del contenido de saponinas, posteriormente a esto son lavadas con agua para eliminar la amargura antes de su consumo (Bojanic, 2011b: p.37).

Los estudios señalan que en el proceso de lavado para eliminar las saponinas se desaprovechan valiosos nutrientes, por lo tanto se modifica su composición química y el contorno de aminoácidos de las semillas de quinua (Bazile et al., 2014b: p.324).

Al definir los pasos para eliminar el contenido de saponinas se han realizado estudios para determinar su localización dentro del grano, llegando a encontrarlo en las cuatro capas externas que envuelven el grano que conjuntamente forman el episperma (cáscara), que es una capa externa que vista bajo microscopio posee forma de una membrana arrugada, constituida por células desprendibles de las otras. En estas rugosidades, se asume que se encuentran las saponinas dentro de unas celdas de un panal en la que se aloja una sustancia blanca, opaca y amarga (Bonifaz, 2010, pp.43-46).

1.3 Método de extracción Soxhlet

Según Núñez (2008a: p.1) la extracción mediante el método soxhlet es efectiva cuando se logra separar la sustancia requerida a partir de su muestra original haciendo uso de otra sustancia que se disuelva en la misma. Para lograr la separación se han identificado tres diferentes equipos de extracción: extracción gas-líquido, extracción sólido-líquido, y extracción líquido-líquido. Este método concurre alrededor de 1879 y en la actualidad califica como uno de los métodos de extracción más utilizados desde la antigüedad, comúnmente empleado como método de referencia a la hora de comparar su capacidad de extracción con la de otros métodos que han surgido hoy en día. Se encuentra reconocido por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) y se lo encuentra como el método 3540C (Núñez, 2008b: p.3).

De acuerdo con la Agencia de Protección Ambiental el método de extracción Soxhlet es utilizado para la extracción de sustancias orgánicas no volátiles. La característica del método Soxhlet consiste en arrastrar sustancias impregnadas dentro de un sólido de origen lipídica a líquido mediante la utilización de un material de vidrio (Arias, 2011a: pp.27-28). A este proceso se lo considera un método de extracción sólido-líquido cuyo objetivo es separar una sustancia desde una muestra que suele ser un compuesto sólido de origen natural manipulando a la misma vez algún tipo de disolvente (Caldas, 2012a: p.19). Según Arias (2011b: p.28) mediante el equipo se logra conseguir triglicéridos, pigmentos, carotenoides, lecitinas, ácidos grasos, fosfolípidos, clorofila, y ácidos grasos.

1.3.1 Funcionamiento

Una de las funciones del equipo Soxhlet es recircular los vapores condensados mediante un conducto a la origen del disolvente que se halla en evaporación permanente, empujando consigo los elementos primordiales de la materia prima que se encuentran contenidos en los cartuchos desechables. En un equipo de laboratorio generalmente se logra obtener un volumen de 500 ml cada cinco minutos y con una recirculación de 100 ml mientras el equipo se encuentre en un período estable (Caldas, 2012b: p.20).

La capacidad de reflujo depende claramente de la eficiencia y el tamaño del condensador (Caldas, 2012c: p.22). Seguido se mete dentro de un cartucho poroso habitualmente de papel filtro la sustancia sólida a separar, este cartucho poroso habilita sin problema el paso de entrada del solvente y la salida del mismo manteniendo suspendida la muestra principal dentro del recipiente (B). Seguido se acerca un balón (C) al recipiente que conducirá la extracción del

volumen total del solvente. A continuación se sitúa un refrigerante (D) en la parte superior del recipiente (B) donde se reúne el líquido que se genera de los vapores que se obtiene una vez caliente el solvente, previamente circulando por un tubo (E) hacia la parte donde se encuentra el refrigerante (D) para que se produzca la condensación que va a rodear al solido que se sitúa en el cartucho (A). Una vez saturado de líquido el recipiente (B) se coloca el líquido dentro del balón (C) esto siempre y cuando llegue al tope del tubo (F) este procedimiento se realiza las veces que sea necesario hasta completar la extracción. Al final el solvente de extracción se volatiliza, salvando la sustancia requerida (Caldas, 2012d: p.23).

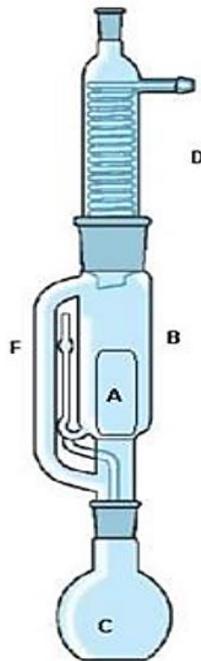


Figura 4-1: Extracción por el método Soxhlet.

Fuente: Caldas, 2012, p.19

1.3.2 Ventajas

Según Caldas (2012c: p.22) el método Soxhlet es eficaz por:

- Amplia capacidad de recuperación con una instrumentación ligeramente simple.
- No requiere filtración ya que el disolvente orgánico se volatiliza permaneciendo solo analito.
- Se encuentran íntimamente en contacto el disolvente y la muestra y varias veces repetido. De modo que se facilita muchísimo la extracción puesto que siempre se utiliza un disolvente limpio.
- Beneficia la solubilidad del analito, al originarse a través de una condensación.

1.3.3 Desventajas

Según Caldas (2012d: p.23) el método Soxhlet consta con algunas desventajas como:

- Los tiempos para extraer los compuestos del sólido suelen ser largos.
- Se descompone la naturaleza original del compuesto sólido a altas temperaturas (termolábiles).
- Se requiere de altas cantidades de disolvente para el proceso de evaporación.
- Abundante agua para el enfriamiento.

1.4 Damping-off

Según Thomas (2013, p.25) el término damping-off se refiere a la descomposición de las semillas en germinación y los tallos de las plántulas jóvenes. También es una de las únicas enfermedades discutidas en detalle en el clásico manual de viveros. El Damping-off se consideró la dificultad más grave encontrada en la cría de plántulas, y fue el tema de uno de los primeros estudios completos de patología en viveros. Tradicionalmente se reconocen dos tipos diferentes de damping-off, y pueden afectar a plantas tanto a raíz desnuda como a viveros de contenedores.

1.4.1 Diagnóstico

1.4.1.1 Pre-emergente

Esta enfermedad afecta a las semillas en germinación antes de que se dé la emergencia, por tal razón resulta difícil diagnosticar pues las semillas afectadas no están visibles; consecuentemente con frecuencia las pérdidas son atribuidas a semillas de “baja calidad” (Baker, 1957a: p.35). Si los germinantes no surgen después de un período razonable, la semilla debe ser excavada y examinada; si el contenido de las semillas se descompone, entonces los hongos de amortiguación pueden estar involucrados. A veces, las semillas en germinación se matan después de que ha surgido la radícula.

1.4.1.2 Post-emergente

La enfermedad afecta a las plántulas jóvenes hasta que sus tallos se lignifiquen. Los síntomas clásicos posterior a la emergencia incluyen la descomposición del hipocótilo de las plántulas en la línea de tierra, haciendo que se caiga. Los síntomas post-emergencia pueden diferir entre los

diferentes tipos de plántulas. Con especies de hoja ancha, la enfermedad se expresa como áreas necróticas en o debajo de la línea de tierra; las plántulas infectadas se marchitan y mueren, pero a menudo permanecen en posición vertical o se rompen justo por encima de la línea del suelo (James, 2012a: pp. 115-116).

El patógeno específico que causa el damping-off no puede determinarse en función de los síntomas para su identificación generalmente se requiere el cultivo de tejido infectado, lo que es importante porque el conocimiento del patógeno específico puede ser útil para desarrollar controles.

1.4.2 Distribución

El damping es la enfermedad de vivero más cosmopolita, y afecta a una amplia variedad de plantas forestales, de conservación y nativas de todo el mundo. Las existencias de viveros en áreas tropicales y templadas son susceptibles. La mayoría de las especies de plantas de coníferas y de madera dura son susceptibles al damping, aunque algunas plantas, no se ven afectadas (James, 2012a: pp.115-116).

1.4.3 Agentes causales

Los hongos (*Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Phytophthora*, *Pythium*) son las causas más comunes de damping-off. Sin embargo, también se han implicado hongos de los géneros *Colletotrichum*, *Alternaria*, *Cylindrocladium* y *Cylindrocarpon* (James, 2012a: pp.115-116).

Tradicionalmente, *Rhizoctonia* sp se ha considerado la principal causa de damping en viveros ornamentales y también se ha encontrado que causa enfermedades de las plántulas de árboles en países extranjeros (Baker, 1957b: p.37). La literatura más reciente enumera los patógenos más comunes que ocasiona el damping como *Fusarium* sp, *Rhizoctonia* sp, *Rhytophthora* sp y *Pythium* sp. Peterson (1974, p.171) concluyó que los tejidos infectados por *Pythium* sp generalmente son más afectados por otros hongos, como *Fusarium* sp.

1.4.4 Manejo de la enfermedad

Según James (2012b: p.116) el damping es una enfermedad que las buenas prácticas fitosanitarias pueden contener fácilmente porque las esporas de los patógenos se propagan por el agua, el suelo o los medios de cultivo en lugar de hacerlo por el aire. Usando el enfoque de plagas

objetivo, un proceso que implica confirmar la plaga, aprender cómo se propaga y luego identificar los puntos críticos de control.

1.5 Tipo de plaga

Varios géneros de hongos (*Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Phytophthora*) son los culpables más comunes, pero otros hongos también pueden estar involucrados. Si los controles generales no son efectivos, será necesaria la confirmación del agente causal mediante el cultivo en medios artificiales (James, 2012b: p.116). El modo de transmisión es muy diferente para cada plaga, aunque la propagación en el suelo infectado o en el medio de crecimiento es común en todas las especies.

1.5.1 *Fusarium sp.*

Comúnmente este hongo es el culpable número uno del envejecimiento vascular principalmente en flores, hortalizas, plantas herbáceas perennes, cultivos, malezas y de la podredumbre de la raíz de muchas plantas. Estos hongos son conocidos como organismos saprófitos porque una vez establecidos en el suelo, se pueden alojar por tiempo e incluso indefinido (Agrios, 2005a: p.420).

Las semillas contaminadas son la principal fuente de propagación de las esporas ya sea en el suelo o medios de cultivo e incluso en contenedores utilizados. El rol que juega la transmisión de semillas se puede observar fácilmente por el tizón del cotiledón. Sin embargo las esporas que se encuentran en el aire, son las principales responsables de la propagación secundaria. Las clamidosporas de paredes gruesas benefician al hongo permitiéndole pasar el invierno dentro de los desechos de las plantas y también se ocasionan esclerocios (James, 2012c: p.118).

1.5.1.1 *Taxonomía*

Barnett & Hunter (1998a: pp.148-149) clasifica a *Fusarium sp.* de acuerdo a la (Tabla 1-1) como se muestra a continuación.

Tabla 1-1: Clasificación taxonómica de *Fusarium* sp.

Reino	Fungi
División	Eumycota
Orden	Moniliales
Clase	Deuteromycete
Familia	Moniliaceae
Género	<i>Fusarium</i>

Fuente: Barnett & Hunter, 1998

1.5.1.2 Características morfológicas

Macroconidios: suelen ser de varias alturas, no son rectos y presentan una ligera desviación, también se puede visualizar un leve engrosamiento desde la mitad de la espora y va disminuyendo hacia los extremos de la misma (Agrios, 2005b: p.425).

Microconidios: se caracteriza por poseer distintas formas y en un solo cultivo entre ellas: ovoide, elíptica, seccionada, reniforme, convexa, periforme, sus dimensiones son muy variadas, raramente se presenta un conidio y en ciertas especies originan dos septos (Vera, 2013, p.12).

Clamidosporas: como se puede observar en la (Figura 5-1) se presentan en forma de cadenas, en grupos o por separado, presentan una pared engrosada, dispuesta entre una o dos células, al presentar esporas esféricas se implantan dentro de sus alargados macronidios o directamente dentro del micelio más viejo el hongo (Agrios, 2005b: p.425).

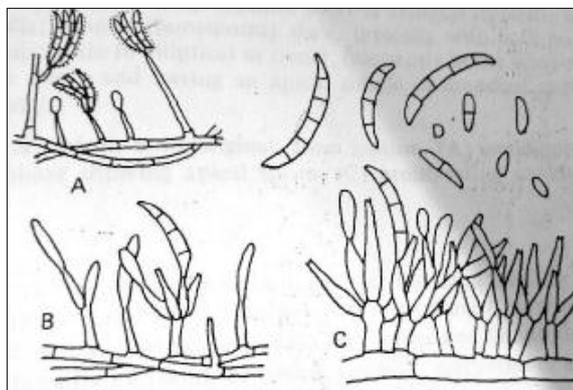


Figura 5-1: Morfología de *Fusarium* sp.

Fuente: Barnett & Hunter, 1998

1.5.1.3 Patogénesis y síntomas

Este hongo fitopatógeno produce sustancias que perjudican a las plantas a la hora de tomar del suelo el agua y nutrientes necesarios interrumpiendo su capacidad regenerar los tejidos ya que penetra la capa exterior de las raíces, corteza y endodermos generando colonias a lo largo de los vasos del xilema y en todo el sistema vascular, ocasionan posteriormente su muerte (Agrios, 2005c: p.424).

Debido al incremento del micelio este hongo coloniza el xilema de las plantas de forma irregular, generalmente en una sola parte de la planta, al momento de degradar los tejidos xilanasas aparecen unas cavidades en la hoja y paredes lignificadas del tallo ocasionadas por el deterioro de la pared celular (Agrios, 2005d: p.428).

Entre los síntomas de la enfermedad es muy común que aparezcan de forma unilateral; acompañados de un amarillamiento parcial o total de las hojas, inclusive se puede observar una mitad clorótica y la otra verde normal con una curvatura de las nuevas hojas emergentes en la parte enferma de la planta; observando una anomalía en cuanto al no crecimiento de la planta estos síntomas se agravan conforme la altura de plantas causando un marchitamiento y posteriormente la muerte (Barnett & Hunter, 1998b: p.149).

1.5.2 *Rhizoctonia sp.*

Este hongo fitopatógeno afecta a todo tipo de plantas desde arbustos, plantas perennes, hortalizas, florales entre otras que hace que cause pérdidas incontrolables, los síntomas de *Rhizoctonia sp.* varían dependiendo de la ciclo de crecimiento en el que se encuentra la planta. Especialmente se identifican por presentar colonias blancas, con texturas algodonosas, planas, pero a pesar de ello y dependiendo de la especie, puede presentarse de tonos de color entre cremas a amarillentas. Este hongo se puede transmitir mediante semillas, esporas en el aire, pero la propagación por el suelo infectado es la más común por mucho porque el hongo pasa el invierno en el suelo como esclerocios (Starkey & Enebak, 2012: p.63).

1.5.2.1 *Taxonomía*

ITIS (2014) clasifica a *Rhizoctonia sp.* a continuación (Tabla 2-1).

Tabla 2-1: Clasificación taxonómica de *Rhizoctonia* sp.

Reino	Fungi
División	Eumycota
Orden	Moliniales
Clase	Hyphomycete
Familia	Agronomycetaceae
Género	<i>Rhizoctonia</i>

Fuente: ITIS, 2014

1.5.2.2 Características morfológicas

En sus etapas iniciales se despliega un micelio palidecido, consecuentemente realiza cambios en sus tonalidades entre amarillo o café claro, existen tres tipos de micelio: hifas coloreadas, hifas de asperges y hifas esclerocios (asociación las dos hifas anteriores), sus hifas poseen núcleos con diámetros de entre 8 a 12 um, son prolongadas y se agrupan disponiendo la forma de un ángulo recto (90 grados) en relación a la hifa principal estableciendo sus hifas en una forma de T (García, 2004, p.105). Cumes (2008, p.65) señala que la mejor forma para identificar al hongo es sin duda comparando las ramificaciones de sus hifas (Figura 6-1).

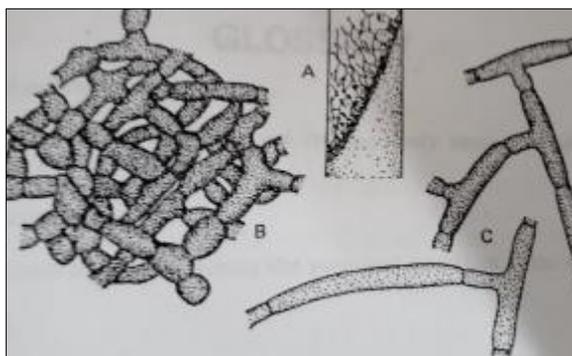


Figura 6-1: Morfología de *Rhizoctonia* sp.

Fuente: Barnett & Hunter, 1998

1.5.2.3 Patogénesis y síntomas

Primordialmente se ve atacando en los primeros días de la plantación. El hongo se beneficia a altas temperaturas y humedad en el suelo, produciendo el decaimiento de la planta y posteriormente su muerte, la descomposición es otra de las peculiaridades cuando el hongo logra infectar la planta esta puede ser superficial que alcanza la raíz y tallo de la planta (Arias &

Jerez, 2008: p.41). Asimismo puede abordar a plantaciones adultas con dificultades de mal drenaje y en suelos con altas temperaturas.

1.5.3 *Pythium sp.*

Este patógeno es conocido generalmente por provocar la estrangulación de las plántulas en vivero, es un oomicete que ocasiona la descomposición de semilla, raíz y frutos carnosos, al igual que de otros órganos que se encuentran en contacto con el suelo (Weiland, 2012, p.130).

Al poder vivir de manera saprófita se conocen alrededor de 120 especies, daña de forma rigurosa la raíz de las plantas pero no alcanza a matarlas formando numerosos conjuntos de propágulos lo que le permite propagarse de manera más rápida ocasionando cuantiosas económicas (Díaz et al., 2011: p.432).

1.5.3.1 *Taxonomía*

Holt & Iudica (2016) clasifica a *Pythium sp.* de la siguiente forma (Tabla 3-1).

Tabla 3-1: Clasificación taxonómica de *Pythium sp.*

Reino	Mycetae
División	Mastigomycotina
Orden	Peronosporales
Clase	Oomycetes
Familia	Pythiaceae
Género	<i>Pythium</i>

Fuente: Holt & Iudica, 2016

1.5.3.2 *Características morfológicas*

Gilman (1963, p.432) indica que las hifas con diámetros menores o iguales a 8 um, se reconocen por sus ramificaciones unicelulares al principio de su desarrollo presenta esporangios esféricos, zoosporas iguales con flagelos laterales como se representa en la (Figura 7-1). Una de las características primordiales para reconocer al hongo *Pythium sp.* es la forma de sus esporangios seguido de las zoosporas que se producen si hubiera o no fabricación de oosporas (fusión de un oogonio y uno o varios anteridios).

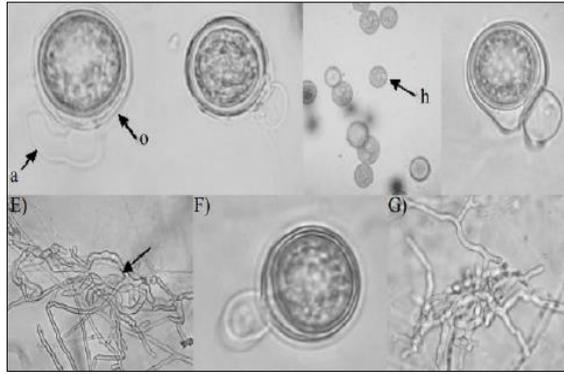


Figura 7-1: Morfología de *Pythium* sp.

Fuente: Barnett & Hunter, 1998

1.5.3.3 Patogénesis y síntomas

Dependiendo de las características del suelo en el que se encuentre tanto de humedad y profundidad el micelio del patógeno ingresa directamente mediante las células epidérmicas de las hojas iniciando una infección superficial o también mediante las células corticales del tallo, alimentándose directamente de la planta causando un deterioro de las paredes celulares, y desintegrando células y tejidos (Agrios, 1997a: p.192).

Cuando las lesiones alcanzan el tejido vascular se identifica una breve decoloración de la planta, revelando la posterior muerte; por otro lado si la infección del patógeno se da por la corteza del tallo por debajo del suelo, la planta puede perdurar un largo periodo de tiempo esto hasta que la infección propase la parte superior del suelo; y los tejidos invadidos no puedan mantener la planta esta decae y posteriormente muere (Agrios, 1997b: p.193).

1.5.4 *Botrytis* sp.

Conocido también como la enfermedad del moho gris en las plantas, considerado como un parásito facultativo en una amplia variedad de hospedantes lo que lo convierte en un peligroso problema económico para las plantas forestales, las temperaturas bajas y las zonas húmedas favorecen su crecimiento, una vez llegado a su etapa de madurez los conidios se propagan por el aire y alcanzan los demás cultivos (Flores et al., 2017a: p.4).

1.5.4.1 Taxonomía

Se consigue observar en la (Tabla 4-1) la clasificación taxonómica de *Botrytis* sp.

Tabla 4-1: Clasificación taxonómica de *Botrytis* sp.

Reino	Fungi
División	Eumycota
Orden	Moniliales
Clase	Hyphomycete
Familia	Moniliaceae
Género	<i>Botrytis</i>

Fuente: Alencastro, 2011, p.9

1.5.4.2 Características morfológicas

Este hongo presenta los conidios de forma ovoide, unicelulares semejantes a un racimo de uvas cuando se encuentra en la punta de los conidióforos como se muestra en la (Figura 8-1) los conidióforos suelen ser espaciosos y ramificados y rara vez produce micelio endurecido (Agrios, 2005e: p.452).

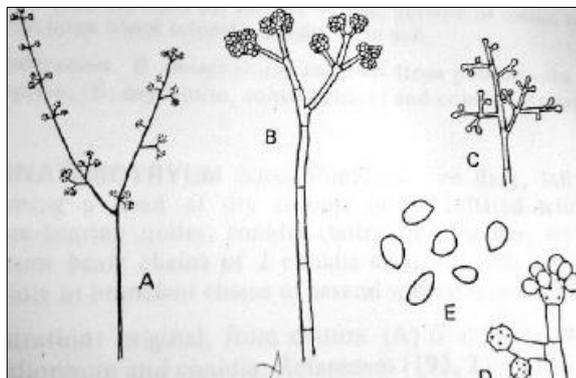


Figura 8-1: Morfología de *Botrytis* sp.

Fuente: Barnett & Hunter

1.5.4.3 Patogénesis y síntomas

Agrios (1999, p.838) menciona que la infección fúngica no se aprecia en un primer momento en las flores. La necrosis de tonos marrones y húmedos cerca del lugar de la infección es uno de los primeros síntomas en indicar un posible ataque. Una mancha de tonos más claros en las flores con un anillo marrón oscuro a su alrededor puede ser también una señal de infección de este hongo durante el invierno, el hongo hiberna en el suelo en forma de pequeños nódulos de consistencia dura (esclerocios o micelios), que crecen sobre las plantas que se encuentran en proceso de descomposición.

1.5.5 *Alternaria sp.*

Es un hongo solitario de suelos, plantas y aire presenta un aspecto filamentosos dematiáceo, sus esporas son diferentes unas de otras dependiendo de la forma que tome el conidio y conidióforos al momento de esporular formando pequeñas cadenas de esporas (Agrios, 1999, p.838).

Según Flores et al (2017b: p.20) *Alternaria sp* es el principal hongo causante de los padecimientos fúngicos en las personas y animales, originando infecciones emergentes y en ciertas ocasiones causa onicomycosis e inflamaciones en la vista. Además produce cuantiosas pérdidas en las cosechas incluso afecta a los vegetales almacenados.

1.5.5.1 *Taxonomía*

Se consigue observar en la (Tabla 5-1) la clasificación taxonómica de *Alternaria sp.*

Tabla 5-1: Clasificación taxonómica de *Alternaria sp.*

Reino	Fungi
División	Ascomycota
Orden	Pleosporales
Clase	Dothideomycetes
Familia	Pleosporaceae
Género	<i>Alternaria</i>

Fuente: Rivas, 2014, p.606

1.5.5.2 *Características morfológicas*

Comúnmente se manifiestan por poseer un aspecto físico recto o en zigzag con hifas y conidios septados de color café, al encontrarse conjuntamente agrupados los conidios consiguen quedar o no cerca de los conidióforos, los conidios en la base presentan una forma redondeada mientras que los que se encuentran en el ápice presentan una forma estrecha como se puede observar en la (Figura 9-1) a continuación (Agrios, 1999, p.838).

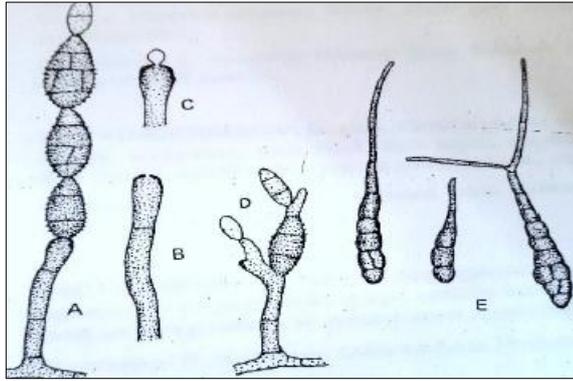


Figura 9-1: Morfología de *Alternaria* sp.

Fuente: Barnett & Hunter, 1998

1.5.5.3 Patogénesis y síntomas

En general, las enfermedades causadas por este hongo aparecen en forma de manchas y carbones foliares, pero pueden ocasionar también ahogamiento de plántulas, pudriciones de cuello y pudriciones. La sintomatología comienza en hojas basales, a la madurez va avanzando paulatinamente hacia el estrato superior (Agrios, 1999, p.838).

Los síntomas comienzan con la aparición de unas pequeñas puntaciones castañas rodeadas de un halo clorótico generalmente se observa en hojas inferiores. La enfermedad se manifiesta generalmente después de la cosecha, con síntomas que corresponden a manchas negras o castañas, que pueden ser deprimidas y que se extienden hacia el interior de los mismos (Agrios, 1999, p.838).

1.6 Guarango (*Caesalpinia spinosa*)

La Tara o Guarango, es una planta producida en varias zonas del país que crece entre los 1000 y 2900 msnm, está presente en el callejón interandino (Patiño, 2011, p.4).

1.6.1 Clasificación taxonómica

Tabla 6-1: Clasificación taxonómica de *Caesalpinia spinosa*.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fabales
Familia	Caesalpinaceae
Género	<i>Caesalpinia</i>
Especie	<i>spinosa</i>

Fuente: Murga et al., 2016, p.94

1.6.2 Características botánicas

Arbolito de 2 a 3 m de altura, llegando en algunos lugares hasta los 10 m, el diámetro del fuste al 1,30 m puede alcanzar entre 0,20 a 0,40 m de altura.

1.6.2.1 Hojas

Las hojas compuestas, binarias, alternas y dispuestas en espiral. Con 6 a 8 pares de folíolos opuestos (Mostacero et al., 2011: p.909). Los folíolos son lisos, glabros, de color verde y borde entero, miden de 8 a 12 cm de largo y presentan espinas tanto en el raquis como en el pecíolo, ramas cilíndricas de 4 a 6 mm de diámetro aproximadamente, agrietadas fuertemente en las partes lignificadas, provistas de ritidoma membranáceo o papiráceo que se desprende en placas alargadas y de aguijones cortos de 4mm de longitud y ofensivos.

1.6.2.2 Flores

Inflorescencia con racimos terminales de 15 a 20 cm de longitud con flores ubicadas en la mitad distal, flores hermafroditas, zigomorfas; cáliz irregular provisto de un sépalo muy largo de alrededor de 1 cm, con numerosos apéndices en el borde, cóncavo; corola con pétalos libres de color amarillento, dispuestas en racimos de 8 a 20 cm de largo, con pedúnculos pubescente de 5 cm de largo, articulado debajo de un cáliz corto y tubular de 6 cm de longitud, los pétalos son aproximadamente dos veces más grandes que los estambres (Mostacero et al., 2011: p.909).

1.6.2.3 Fuste

Tronco corto, tortuoso, con tendencia a ramificarse desde la base, corteza agrietada color marrón claro, provisto de aguijones triangulares gruesos y cortos cuando maduros, copa irregular, poco densa, con ramas ascendentes y espinosas repartidas irregulares (Murga et al., 2016: p.93).

1.6.2.4 Frutos

Frutos en vainas encorvadas, indehiscentes de 2 cm de ancho por 8 a 9 cm de largo y de color naranja-rojizo como se puede visualizar en la (Figura 10-1); con semillas ovoides, ligeramente apandadas y presentan un mesocarpio comestible y transparente; cuando maduran son duras, de color pardo oscuro o negruzco y brillante, por estar cubiertas de un tegumento impermeable (Mostacero et al., 2011: p.909).



Figura 10-1: Ramas y frutos de *Caesalpinia spinosa*.

Fuente: Mostacero et al., 2011, p.909

1.6.3 Plagas y enfermedades

El guarango (*Caesalpinia spinosa*) es una especie rústica, eventualmente es propensa a ser atacada por plagas y enfermedades. Éstas tienen más posibilidades de manifestarse en zonas menos diversas donde las poblaciones de organismos controladores no son suficientes para frenar la proliferación de los organismos que causan daño a la planta (De la Torre, 2018a: p.40).

Entre los problemas más conocidos está el ataque de los pulgones que chupan la savia de las ramas con flores y de rebrotes, ocasionando su caída. Estos secretan una especie de miel que no deja respirar a la planta y que hospeda al hongo fumagina, este hongo negrea las hojas y vainas dificultando su crecimiento y su comercialización (FAO, 1997). También se ha reportado el ataque de arañas rojas (*Tetranychus urticae*) que son ácaros que chupan los jugos de las hojas,

pudiendo causar la caída masiva de hojas del árbol sobre todo en épocas secas y calurosas, así como el ataque de trips, que raspan las hojas para comer su savia; además se ha identificado insectos que se comen sus hojas como el gusano falso medidor (*Trichoplusia ni*) y las hormigas (*Atta Cephalotes*).

Una de las enfermedades que más aqueja al guarango es el marchitamiento vascular progresivo en las plantas cuando están en vivero y con menor incidencia en plantaciones. En vivero, la incidencia y severidad puede ser alta, dependiendo del origen y calidad de sustrato utilizado y la humedad del suelo. En plantación, las plantas infectadas pueden llegar a marchitarse completamente a los dos años. El agente causal del marchitamiento del guarango, podrían ser los hongos de los géneros de *Fusarium* y *Verticillium* (Pérez & García, 2019: p.52). Por otro lado el hongo “*oidium*”, conocido como ceniza, recubre con un polvo blanquecino sus hojas y frutos que impiden su buen desarrollo (De la Torre, 2018b: p.41).

CAPÍTULO II

2 MARCO METODOLÓGICO

2.1 Hipótesis y especificación de variables

2.1.1 *Hipótesis*

2.1.1.1 *Hipótesis Nula –H0*

El bioproducto a base de saponinas no inhibe el crecimiento de hongos fitopatógenos (*Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Botrytis* sp.)

2.1.1.2 *Hipótesis Alternante – H1*

El bioproducto a base de saponinas inhibe el crecimiento de hongos fitopatógenos (*Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Botrytis* sp.)

2.1.2 *Variables*

2.1.2.1 *Variable dependiente*

- Inhibición de hongos fitopatógenos en vivero

2.1.2.2 *Variable independiente*

- Concentración de bioproducto a base de saponinas

2.1.2.3 *Variables intervinientes*

- Variedad de saponinas
- Altura de las plantas de guarango

2.2 Características del campo experimental

2.2.1 Localización

La presente investigación se realizó a nivel de laboratorio y campo:

- Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Recursos Naturales.
- Vivero Forestal de la Facultad de Recursos Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2.2 Ubicación geográfica¹

- Coordenadas Proyectadas UTM Zona 17S, DATUM WGS 84
- Latitud: 1°39'4.86"S
- Longitud: 78°40'49.29"O
- Altitud: 2755msnm

2.2.3 Características climáticas²

- Precipitación media anual: 561 mm
- Temperatura media anual: 14,0 °C
- Humedad relativa media diaria: 63,1 %

2.3 Materiales y Equipos

2.3.1 Materiales de laboratorio

Equipo Soxhlet, cajas Petri, frasco ámbar, pipetas, tubos de ensayo, guantes de látex, porta y cubre objetos, microscopio, balanza analítica digital, refrigeradora, probeta, matraz redondo, regla graduada, papel filtro, estufa bacteriológica, autoclave.

2.3.2 Materiales de campo

Bolsas plásticas para recolección de muestras, cámara fotográfica, pala, lápices, libreta de campo, flexómetro, etiquetas, regadera, marcadores, rociadores.

¹ Datos tomados del Ministerio del Ambiente, 2013

² Datos tomados en la Estación meteorológica de la ESPOCH, 2017

2.3.3 *Materiales de oficina*

Computadora, impresora, calculadora.

2.3.4 *Insumos*

Plántulas de guarango (*Caesalpinia spinosa*), bioproducto a base de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd).

2.4 *Metodología*

2.4.1 *Factores en estudio*

2.4.1.1 *Factor A: Concentración del bioproducto*

- C1 = 100 ml saponina (100%)
- C2 = 75 ml saponina + 25 ml agua (75%)
- C3 = 50 ml saponina + 50 ml agua (50%)
- C4 = 25 ml saponina + 75 ml agua (25%)

2.4.1.2 *Factor B: Hongos fitopatógenos*

- H1 = *Fusarium* sp.
- H2 = *Rhizoctonia* sp.
- H3 = *Pythium* sp.
- H4 = *Botrytis* sp.

2.4.2 *Tipo de diseño*

Se estableció un diseño de bloques completos al azar en arreglo factorial $4 \times 4 + 1$ comprendió cuatro concentraciones diferentes de bioproducto a base de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) (A) y cuatro hongos fitopatógenos presentes en plantas de guarango (B) resultando un total de 16 tratamientos más un testigo, es decir 17 tratamientos, con tres réplicas cada uno, completando 51 unidades experimentales como se muestra en la (Tabla 1-2).

Tabla 1-2: Número de tratamientos a evaluar el efecto del bioproducto a base de saponinas de (*Chenopodium quinoa* Willd) sobre cuatro hongos fitopatógenos.

TRATAMIENTOS	CÓDIGO	DESCRIPCIÓN
T1	C1H1	100 ml saponina (100%) frente a <i>Fusarium</i> sp.
T2	C1H2	100 ml saponina (100%) frente a <i>Rhizoctonia</i> sp.
T3	C1H3	100 ml saponina (100%) frente a <i>Pythium</i> sp.
T4	C1H4	100 ml saponina (100%) frente a <i>Botrytis</i> sp.
T5	C2H1	75 ml saponina + 25 ml agua (75%) frente a <i>Fusarium</i> sp.
T6	C2H2	75 ml saponina + 25 ml agua (75%) frente a <i>Rhizoctonia</i> sp.
T7	C2H3	75 ml saponina + 25 ml agua (75%) frente a <i>Pythium</i> sp.
T8	C2H4	75 ml saponina + 25 ml agua (75%) frente a <i>Botrytis</i> sp.
T9	C3H1	50 ml saponina + 50 ml agua (50%) frente a <i>Fusarium</i> sp.
T10	C3H2	50 ml saponina + 50 ml agua (50%) frente a <i>Rhizoctonia</i> sp.
T11	C3H3	50 ml saponina + 50 ml agua (50%) frente a <i>Pythium</i> sp.
T12	C3H4	50 ml saponina + 50 ml agua (50%) frente a <i>Botrytis</i> sp.
T13	C4H1	25 ml saponina + 75 ml agua (25%) frente a <i>Fusarium</i> sp.
T14	C4H2	25 ml saponina + 75 ml agua (25%) frente a <i>Rhizoctonia</i> sp.
T15	C4H3	25 ml saponina + 75 ml agua (25%) frente a <i>Pythium</i> sp.
T16	C4H4	25 ml saponina + 75 ml agua (25%) frente a <i>Botrytis</i> sp.
T17	T0	Testigo

Realizado por: Pinza Lady, 2019

2.4.3 Especificaciones del campo experimental

- Número de tratamientos = 16 + 1
- Número de repeticiones = 3
- Número de unidades experimentales = 51
- Número de plantas por tratamiento = 6
- Número total de plantas a evaluar = 306
- Forma de la parcela = rectangular
- Largo total de la parcela = 9m
- Ancho total de la parcela = 1, 65m
- Distancia entre tratamientos = 10cm

2.4.4 Análisis estadístico

Se empleó un análisis de varianza para medir la variación total de todos los tratamientos aplicados, para evaluar el bioproducto. El análisis hace una relación entre la variable

dependiente (inhibición de hongos fitopatógenos) y la variable independiente (concentración de bioproducto).

Se realizó un análisis de regresión lineal para establecer la dosis de aplicación más adecuada para cada uno de los hongos fitopatógenos (*Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Botrytis* sp.) frente a cada una de las concentraciones del bioproducto a base de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd).

2.5 Técnica de evaluación y recolección de datos

Para cumplir con los objetivos planteados se procedió a realizar las siguientes actividades y toma de registro de datos.

2.5.1 Fase de laboratorio

2.5.1.1 Evaluación de la concentración de saponina de la semilla y cáscara de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) mediante el método afrosimétrico

Para la evaluación de la concentración de saponinas presentes en la semilla y cáscara de *Chenopodium quinoa* Willd, se trabajó con la metodología descrita por (Kozioł, 1991).

Se pesaron 0.5 g de semilla de *Chenopodium quinoa* Willd + 5 ml de agua destilada y se ubicaron dentro de un tubo de ensayo.

Se pesaron 0.5 g de cáscara de *Chenopodium quinoa* Willd + 5 ml de agua destilada y se ubicaron dentro de un tubo de ensayo.

El tubo de ensayo fue cerrado y sacudido vigorosamente durante 30 segundos y se dejó reposar durante 10 segundos hasta que se establezca la espuma, por último se procedió a medir la altura de la espuma con la ayuda de una regleta graduada para calcular los datos mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Concentración de saponinas } \frac{\text{mg}}{\text{g}} = \frac{[(0,432)(\text{Altura de la espuma después de 30seg, cm}) + 0.008]}{\text{Masa fresca de la muestra (g)}}$$

Se realizó 10 repeticiones.

2.5.1.2 *Extracción de saponinas de la semilla de quinua (Chenopodium quinoa Willd) mediante el método Soxhlet*

Se pesó 200 gramos de semilla de *Chenopodium quinoa* Willd dentro de un cartucho de extracción fabricado con papel filtro cortando un cuadrado de aproximadamente 10 cm de cada lado y se introdujo dentro del extractor Soxhlet.

Se incorporó 700 ml de solvente (agua) dentro de un matraz de fondo redondo de capacidad de 1000 ml y se acoplo al equipo Soxhlet. Dispositivo

Seguido se procedió a montar el equipo Soxhlet colocando un condensador, tras esto se colocó el reverbero y se reguló el caudal del agua que va a transitar por el reflujo. Una vez el solvente alcanzó la temperatura de ebullición este se volatilizó y alcanzó al refrigerante condensándose y cayendo por la división del cartucho de muestra original.

Aproximadamente el ciclo duró cuatro horas hasta realizar dos extracciones sucesivas y se observó que el solvente en el matraz conservaba una tonalidad ámbar.

A continuación se midió el volumen del extracto acuoso, este se almacenó en una botella ámbar anteriormente desinfectada y se conservó en refrigeración.

2.5.1.3 *Preparación de las concentraciones a partir del extracto acuoso de saponinas de quinua (Chenopodium quinoa Willd)*

A partir del extracto acuoso alcanzado en el acápite anterior se dispusieron cuatro concentraciones en agua al 100%, 75%, 50% y 25%, como se describe a continuación.

- Concentración al 100%, consistió en 100ml de extracto puro de saponinas.
- Concentración al 75%, consistió en 75 ml de extracto de saponina + 25 ml de agua.
- Concentración al 50%, consistió en 50 ml de extracto de saponina + 50 ml de agua.
- Concentración al 25%, consistió en 25 ml de extracto de saponina + 75 ml de agua.

Para la preparación de cada concentración se trabajó con una probeta; se incorporó a la probeta la cantidad exacta de extracto de saponina y luego se añadió la otra cantidad de agua. Luego lentamente y con cuidado el contenido fue depositado dentro de los rociadores de 300 ml de capacidad, previamente etiquetados como se observa en la (Figura 1-2) a continuación.



Figura 1-2: Concentraciones a base del extracto de saponinas de quinua.

Fuente: Pinza Lady, 2020

2.5.1.4 Caracterización de los hongos fitopatógenos (*Fusarium sp.*, *Rhizoctonia sp.*, *Pythium sp.*, *Botrytis sp.*)

Para la caracterización de los hongos fitopatógenos existentes, se procedió a escoger una muestra de suelo de uno de los tratamientos antes de comenzar con las aplicaciones, considerando las plantas más enfermas y que presentaba síntomas característicos a partir de los cuales se realizó el aislamiento, e identificación de los cuatro géneros en estudio *Fusarium sp.*, *Rhizoctonia sp.*, *Pythium sp.*, *Botrytis sp.*

Se utilizó una proporción de suelo proveniente de uno de los tratamientos propuestos en campo, el cual se dejó secar a temperatura ambiente y se tamizó con granulometría de 2 mm.

Se pesó 10 g de suelo y se los colocó en un erlenmeyer con 90 ml de agua destilada estéril (dilución 1/10), se agito aproximadamente por unos 20 min la suspensión madre de suelo, seguidamente se la dejó reposar por 5 minutos.

Se prepararon las cajas Petri una vez que la cámara de aislamiento estuvo desinfectada, ubicando con una pipeta 1 ml de la suspensión madre de suelo y sobre está 10 ml de medio PDA repartiéndolo de manera uniforme con movimientos suaves y circulares.

Las cajas petri fueron selladas e incubadas por 48 horas a $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ hasta el apareamiento de colonias características.

Se procedió a la identificación de los géneros de hongos presentes, mediante preparaciones microscópicas para observar (400X) las características morfológicas del micelio y comprobar la presencia de los hongos fitopatógenos, mediante el uso de la clave taxonómica propuesta por (Barnett y Hunter, 1998).

2.5.2 Fase de campo

2.5.2.1 Altura de las plantas

Se midió la altura de las plantas desde el cuello hasta la punta del meristemo principal en centímetros, la toma de datos se realizó a los 8, 15 y 45 días, después de la climatización de las mismas.

2.5.2.2 Porcentaje de sobrevivencia

Se contabilizó en base a la relación entre el número total de plantas establecidas por tratamiento y el número total de plantas vivas encontradas a los 45 días.

2.5.2.3 Porcentaje de intensidad de ataque

Se midió en base a la presencia o no de los hongos fitopatógenos en las plantas a través de la observación directa a los 45 días, de acuerdo a:

Tabla 2-2: Escala de intensidad de ataque.

GRADO	VALOR EN GRADO	% DE SUPERFICIE AFECTADA
0	Ausencia de síntomas	0
1	Síntomas muy leves	1
2	Síntomas leves	2
3	Síntomas fuertes	3 – 4
4	Síntomas muy fuertes	Mayor a 5

Fuente: Horsfall & Cowling, 1978

2.5.2.4 Porcentaje de incidencia de ataque

Se evaluó en base al número de plantas infectadas sobre el número total de plantas, a través de la observación directa al final de la última aplicación del bioproducto; aplicando la siguiente fórmula (Horsfall & Cowling, 1978).

$$PI = \frac{\text{Número de plantas infectadas}}{\text{Número total de plantas}} * 100$$

2.6 Manejo del ensayo

2.6.1 *Establecimiento de la parcela*

Se procedió hacer la limpieza y nivelación de la parcela (cama) en el vivero y se colocaron los grupos de plantas para la investigación y se dejó aclimatar las plantas por 8 días.

2.6.2 *Identificación de los tratamientos y rotulación*

Establecidos los grupos de plantas, se realizó el sorteo de los tratamientos y sus repeticiones y seguido de ello se colocó las respectivas etiquetas de acuerdo al sorteo realizado.

2.6.3 *Riego*

Se realizaron tres veces por semana, manteniendo la humedad del sustrato, tomando en cuenta hacerlo en las primeras horas de la mañana.

2.6.4 *Aplicación del bioproducto*

Se la realizó por medio de rociadores de 300 ml de capacidad cada uno, los cuales contenían 100 ml de cada una de las concentraciones C1, C2, C3 y C4 destinadas para cada tratamiento, la aplicación se la realizó a los 8 y 15 días después de haberse establecido la investigación.

2.6.5 *Deshierbe*

Se efectuó de forma manual cada 15 días, para no causar daño, y evitando así la competencia entre maleza y planta.

CAPÍTULO III

3 MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

3.1 Resultado de la evaluación de la concentración de saponinas de la semilla y cáscara de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) por el método afrosimétrico

Mediante el método afrosimétrico se demostró que la variedad de *Chenopodium quinoa* Willd empleada para la investigación se la puede clasificar como amarga (Koziol, 1991).

Tabla 1-3: Estimación de la concentración de saponinas por el método afrosimétrico.

	Altura de la espuma (cm)	Mg saponina / g masa fresca	Contenido de saponinas (%)
Semilla	5.93	5.14	51.40
Cáscara	2.38	2.07	20.72

Realizado por: Pinza Lady, 2020

Se observó que las saponinas al ser agitadas presentan una espuma estable tanto para la semilla como para la cáscara de *Chenopodium quinoa* Willd, característica representativa de las propiedades tensoactivas.

Koziol (1991) manifiesta que el método afrosimétrico es de rápida estimación en comparación con el método normal que posee una duración de 73 minutos, además señala que la altura de la espuma es muy impredecible ya que cambia rápidamente y se debe tener precaución, asimismo menciona se refiere a que la concentración de saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd para considerarla de variedad dulce debe estar libre de saponinas o contener un porcentaje \leq a 0.11% mientras para considerarla de variedad amarga debe ser \geq a 0.11%, por lo tanto los resultados obtenidos en la (Tabla 1-3) corresponde a una variedad amarga de *Chenopodium quinoa* Willd.

Mina (2014) evaluó la concentración de saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd dulce, mediante el método de espuma, donde obtuvo como resultados 0.06% de saponinas para para la variedad INIAP – Pata de venado. Al relacionar esta investigación con la presente se observó que los valores son demasiado lejanos entre sí. Esta diferencia observada entre los porcentajes demuestra el grado de viabilidad para comparar el método entre *Chenopodium quinoa* Willd amarga de *Chenopodium quinoa* Willd dulce.

Los resultados obtenidos son similares a los resultados reportados por Carrillo (2019) en lo referente al contenido de saponinas, dicha investigación se realizó usando granos y cáscara (episperma) de *Chenopodium quinoa* Willd, reportando 53.56% de saponinas para el grano y 22.28% de saponinas para la cáscara de *Chenopodium quinoa* Willd, siendo similar a los datos obtenidos en esta investigación como se observa en la (Tabla 1-3).

3.2 Resultado de la extracción de saponinas mediante el método Soxhlet a partir de la semilla de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd)

Alcanzados los resultados de la concentración de saponinas se optó por utilizar las semillas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) para la extracción de las saponinas, obteniendo un volumen de 400 ml por cada extracción, en total 800 ml por las dos extracciones.

3.3 Resultados de la preparación de las concentraciones a partir del extracto acuoso de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd)

Tabla 2-3: Concentración porcentual de saponinas para cada tratamiento.

Concentración	%	Contenido
C1	100	100 ml de extracto de saponinas
C2	75	75 ml de extracto de saponinas + 25 ml de agua
C3	50	50 ml de extracto de saponinas + 50 ml de agua
C4	25	25 ml de extracto de saponinas + 75 ml de agua

Realizado por: Pinza Lady, 2020

3.4 Caracterización macroscópica y microscópica de los hongos fitopatógenos

3.4.1 *Fusarium* sp.

En la (Figura 1-3) se visualizó una enorme variabilidad, se presentaron colonias cuyas tonalidades variaron desde el color blanco hasta ligeramente amarillento, con el pasar del tiempo fueron presentando una pigmentación rosa salmón a violeta, el micelio tiene una textura algodonosa además presentaron bordes redondeados y regulares, microscópicamente se observó la presencia de microconidios, elipsoidal y macroconidios con apariencia levemente curvados. De acuerdo con lo descrito por Carrillo (2003) y Schroers et al. (2009) se confirma el género *Fusarium*.



Figura 1-3: Identificación de *Fusarium* sp.

Realizado por: Pinza Lady, 2020

3.4.2 *Rhizoctonia* sp.

La (Figura 2-3) exhibió la forma y margen de un hongo circular, con aspecto velludo, el micelio expresó tonalidades desde blanco a pardo oscuro, se pudo observar microscópicamente contracción de las hifas, con ramificaciones de ángulo recto con respecto a las hifas principales en forma de una T. Según lo definido por Barnett et al. (1998) y García (2004) se reafirma el género *Rhizoctonia*.



Figura 2-3: Identificación de *Rhizoctonia* sp.

Realizado por: Pinza Lady, 2020

3.4.3 *Pythium* sp.

La (Figura 3-3) presentó colonias de forma y borde circular, con una textura algodonosa, el micelio presentó tonalidades blancas, microscópicamente también se visualizó varias zoosporas uniformes. De acuerdo con lo descrito por García (2004) se confirmó el género *Pythium*.



Figura 3-3: Identificación de *Pythium* sp.

Realizado por: Pinza Lady, 2020

3.4.4 *Botrytis* sp.

En la (Figura 4-3) se manifestó colonias de tonalidades entre café claro y oscuro, el micelio tiene una textura algodonada. Microscópicamente también se visualizó conidióforos y racimos de conidios dispuestos de manera ovoide. Según lo descrito por Barnett et al. (1998) y Carillo (2003) se confirma el género *Botrytis*.



Figura 4-3: Identificación de *Botrytis* sp.

Realizado por: Pinza Lady, 2020

3.5 Altura de las plantas a los 8, 15 y 45 días después de la climatización

3.5.1 *Altura a los 8 días en cm*

En la (Gráfica 1-3) se observa el resultado de la altura de las plantas de cada uno de los tratamientos a los 8 días después de la climatización de las mismas, observando que no existe gran variabilidad entre los tratamientos, teniendo alturas que van desde 4.78 cm hasta 5.61 cm, siendo el tratamiento T17 (testigo) el que presenta una altura media más baja.

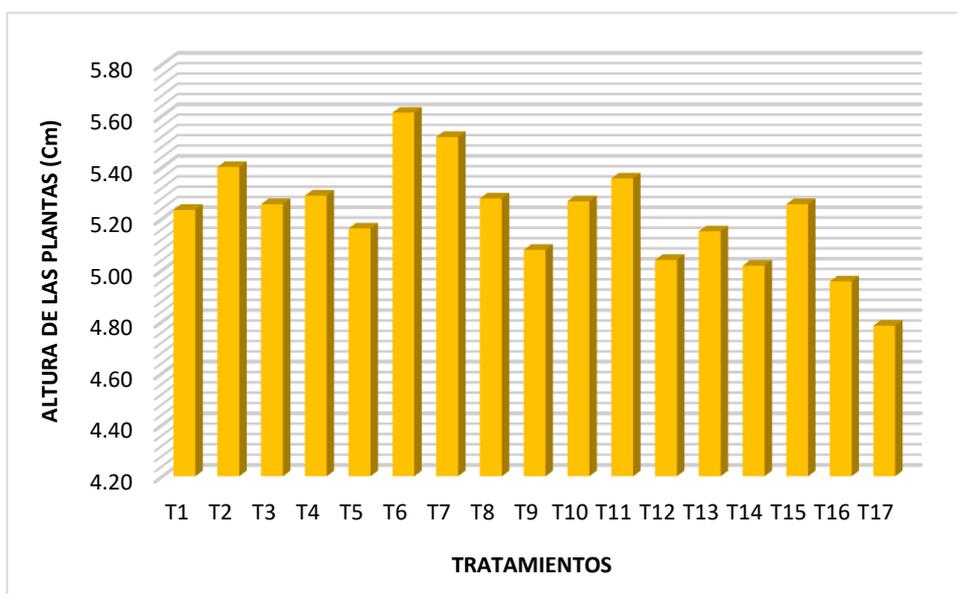


Gráfico 1-3: Altura de las plantas a los 8 días.

Realizado por: Pinza Lady, 2020

Los tratamientos que presentaron las plantas con mayor altura fue el tratamiento T6 que corresponde a la concentración al 75% del bioproducto frente a *Rhizoctonia* sp y el tratamiento T7 que corresponde a la concentración al 75% del bioproducto frente a *Pythium* sp.

Según el análisis de varianza para la variable altura de las plantas a los 8 días (Tabla 3-3) no existen diferencias significativas entre los tratamientos. El coeficiente de variación fue de 7.54% lo que indica confianza experimental de los resultados.

Tabla 3-3: Análisis de varianza para la variable altura a los 8 días en cm.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F - calculado
Tratamientos	16	2.67	0.167	1.08 n.s
Repeticiones	2	1.60	0.801	5.17 n.s
Error	32	4.95	0.153	
TOTAL	50	9.22		

Realizado por: Pinza Lady, 2020

Coeficiente de variación: 7.54%

Media: 5.22

3.5.2 Altura a los 15 días en cm

En la (Gráfica 2-3) se expone el resultado de la altura de las plantas de cada uno de los tratamientos a los 15 días después de la climatización de las mismas, notando que no existe variabilidad entre los tratamientos, teniendo alturas que van desde 4.79 cm hasta 5.63 cm, siendo el tratamiento T17 (testigo) el que presenta una altura media más baja.

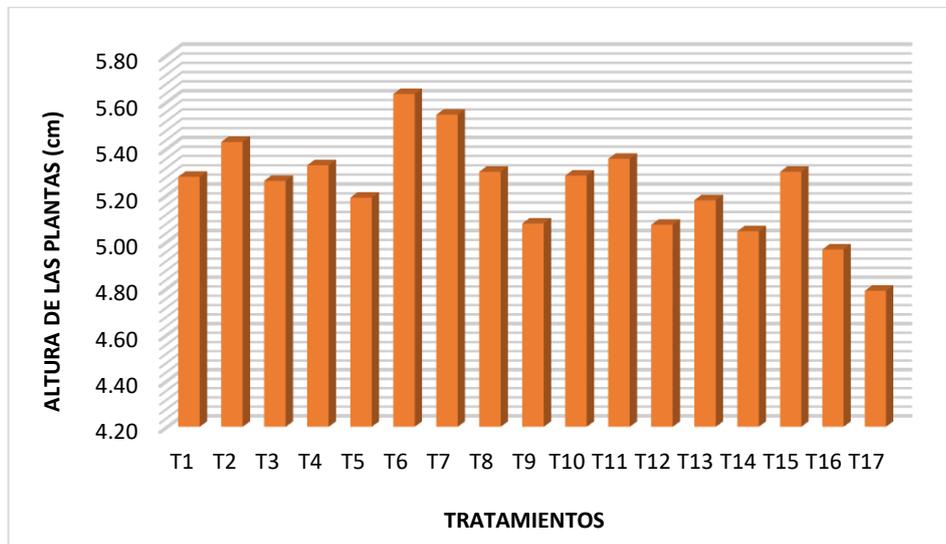


Gráfico 2-3: Altura de las plantas a los 15 días.

Realizado por: Pinza Lady, 2020

Se encontró que las plantas con mayor altura, se presentaron en los tratamientos T6 que corresponde a la concentración al 75% del bioproducto frente a *Rhizoctonia* sp y en el tratamiento T7 que corresponde a la concentración al 75% del bioproducto frente a *Pythium* sp. respectivamente.

Pero a su vez se observó que los tratamientos T2 que corresponde a la concentración al 100% del bioproducto frente a *Fusarium* sp. y el tratamiento T11 que corresponde a la concentración al 50% del bioproducto frente a *Pythium* sp. se encuentran muy próximos a los dos tratamientos anteriores.

Según el análisis de varianza para la variable altura de las plantas a los 15 días (Tabla 4-3) no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. El coeficiente de variación fue de 7.51% lo que indica confianza experimental de los resultados.

Tabla 4-3: Análisis de varianza para la variable altura a los 15 días en cm.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F - calculado
Tratamientos	16	2.41	0.151	0.97
Repeticiones	2	2.53	1.265	8.16
Error	32	4.96	0.155	
TOTAL	50	9.90		

Realizado por: Pinza Lady, 2020

Coefficiente de variación: 7.51%

Media: 5.243

3.5.3 Altura a los 45 días en cm

En la (Gráfica 3-3) se expone el resultado de la altura de las plantas de cada uno de los tratamientos a los 45 días después de la climatización de las mismas, notando que no existe una gran variabilidad entre tratamientos, teniendo alturas que van desde 6.12 cm hasta 7.23 cm.

Normalmente cabría esperar que las plantas del tratamiento T17 (testigo) continúen siendo las más bajas, sin embargo el tratamiento T15 que corresponde a la concentración al 25% del bioproducto frente a *Pythium* sp. se encuentra por debajo.

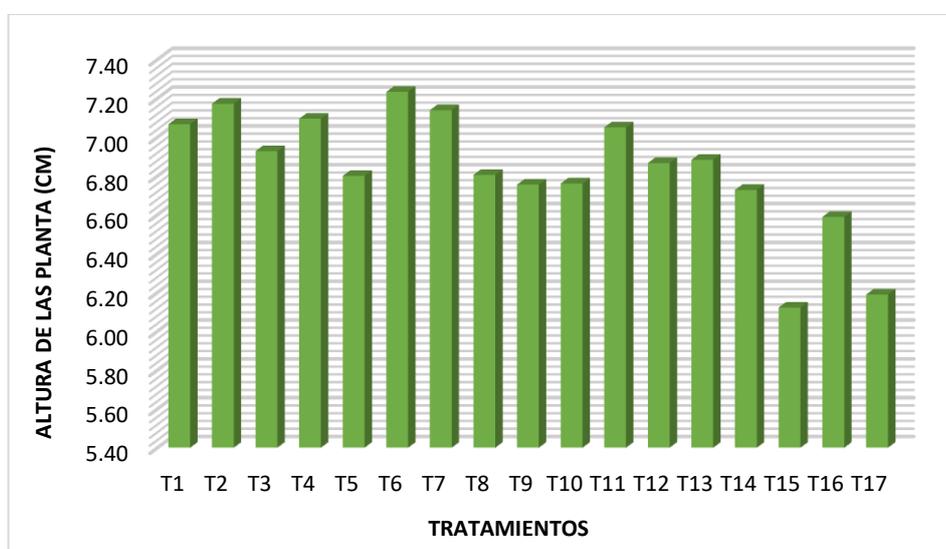


Gráfico 3-3: Altura de las plantas a los 45 días.

Realizado por: Pinza Lady, 2020

Las plantas con mayor altura, se mantuvieron en el tratamiento T6 que corresponde a la concentración del 75% del bioproducto frente a *Rhizoctonia* sp. pero se observó que los tratamientos T2 que corresponde a la concentración al 75% del bioproducto frente a *Rhizoctonia* sp. y el tratamiento T7 que corresponde a la concentración al 75% del bioproducto frente a *Pythium* sp. se encuentran muy próximos.

Según el análisis de varianza para la variable altura de las plantas a los 45 días (Tabla 5-3) no se han encontrado diferencias significativas entre los tratamientos. El coeficiente de variación fue de 8.65% lo que indica confianza experimental de los resultados.

Tabla 5-3: Análisis de varianza para la variable altura a los 45 días en cm.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F - calculado
Tratamientos	16	4.65	0.291	0.83
Repeticiones	2	8.89	4.444	12.70
Error	32	11.19	0.350	
TOTAL	50	24.73		

Realizado por: Pinza Lady, 2020

Coeficiente de variación: 8.65%

Media: 6.834

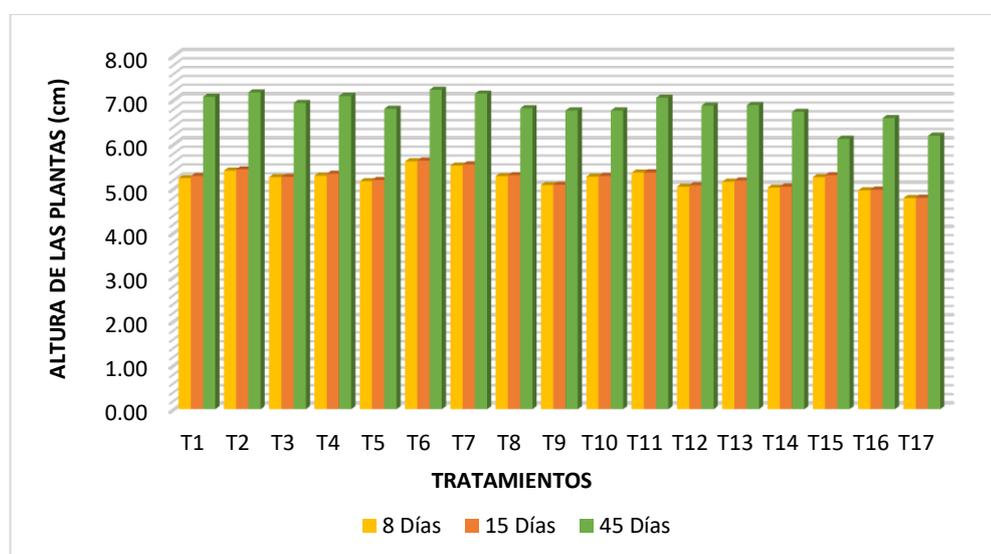


Gráfico 4-3: Comparación de la variable altura a los 8, 15 y 45 días.

Realizado por: Pinza Lady, 2020

Como se puede observar en el (Gráfico 4-3) la variable altura a los 8 y 15 días reporta diferencias ligeramente superiores para la variable altura a los 15 días, sin embargo las diferencias no son significativas, lo contrario sucede al comparar con la variable altura a los 45 días donde se evidencia un aumento de altura para cada tratamiento en comparación con la variable altura a los 8 y 15 días.

3.6 Porcentaje de sobrevivencia

Después de evaluar los tratamientos por un período de 45 días, la investigación presentó en general un 99.35% de sobrevivencia de las plantas. El menor porcentaje de sobrevivencia se presentó en los tratamientos T8 que corresponde a la concentración al 75% del bioproducto frente a *Botrytis* sp. y en el tratamiento T11 que corresponde a la concentración al 50% del bioproducto frente a *Pythium* sp. con un 94.44% de sobrevivencia.

3.7 Intensidad del ataque a los 45 días

En la (Gráfica 5-3) se expone el resultado de la intensidad del ataque de cada tratamiento a los 45 días, notando que existe variabilidad entre los tratamientos, obteniendo que el mayor porcentaje de superficie afectada se encuentra en el tratamiento T8 (concentración al 75% frente a *Botrytis* sp) y en el tratamiento T17 (testigo) y los tratamientos T14, T15 y T16 (concentración al 25% frente *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Botrytis* sp respectivamente) presentan un menor porcentaje de superficie afectada.

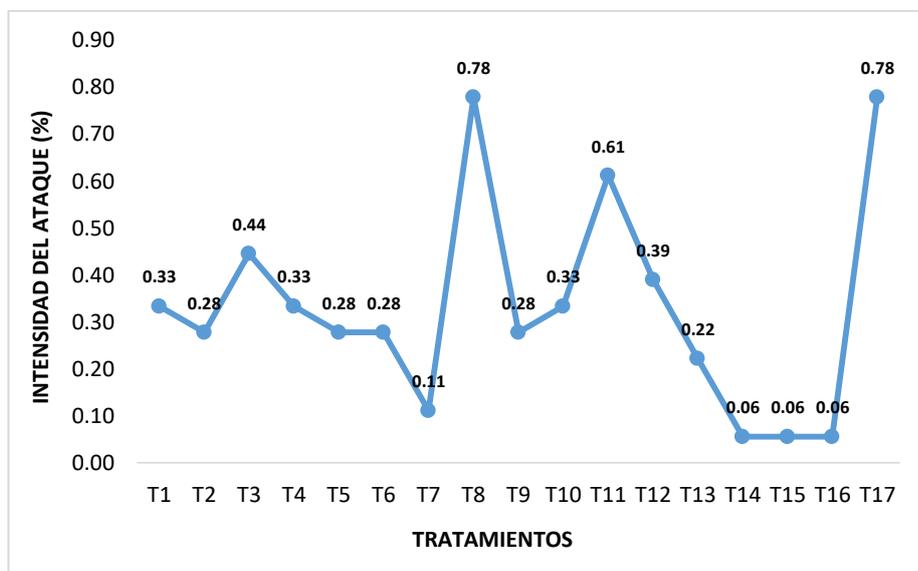


Gráfico 5-3: Intensidad del ataque a los 45 días.

Realizado por: Pinza Lady, 2020

El análisis de varianza para la variable intensidad del ataque a los 45 días no presentó diferencias significativas, con una media general de 0.324 y un coeficiente de variación de 85.99% (Tabla 6-3).

Tabla 6-3: Análisis de varianza para la variable intensidad del ataque.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F - calculado
Tratamientos	16	2.40	0.150	1.93
Repeticiones	2	0.16	0.081	1.04
Error	32	2.49	0.078	
TOTAL	50	5.05		

Realizado por: Pinza Lady, 2020

3.8 Porcentaje de incidencia del ataque

Después de evaluar los tratamientos por un período de 45 días, la investigación presentó la incidencia del ataque más alta con un 66.67% en el tratamiento T17 (testigo).

Los porcentajes de incidencia más bajos se encontraron en los tratamientos T14, T15 y T16 que corresponden a la concentración al 25% del bioproducto frente *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp. y *Botrytis* sp. respectivamente con un 5,56% de incidencia, seguido del tratamiento T7 que corresponde a la concentración al 75% del bioproducto frente a *Pythium* sp. que presentó un 11,11% de incidencia un valor muy cercano al anterior.

3.9 Evaluación a nivel de vivero de la actividad antifúngica del bioproducto a base de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) frente a los hongos fitopatógenos (*Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp. *Pythium* sp., *Botrytis* sp.)

3.9.1 Evaluación de la actividad antifúngica del bioproducto frente a *Fusarium* sp.

Tabla 7-3: Porcentaje de inhibición del hongo *Fusarium* sp. presente en las concentraciones del bioproducto a base de saponinas frente al testigo.

Concentraciones (%)	Intensidad del ataque	% de inhibición
100	0.33	57.69
75	0.28	64.10
50	0.28	64.10
25	0.22	71.79
TESTIGO	0.78	

Realizado por: Pinza Lady, 2020

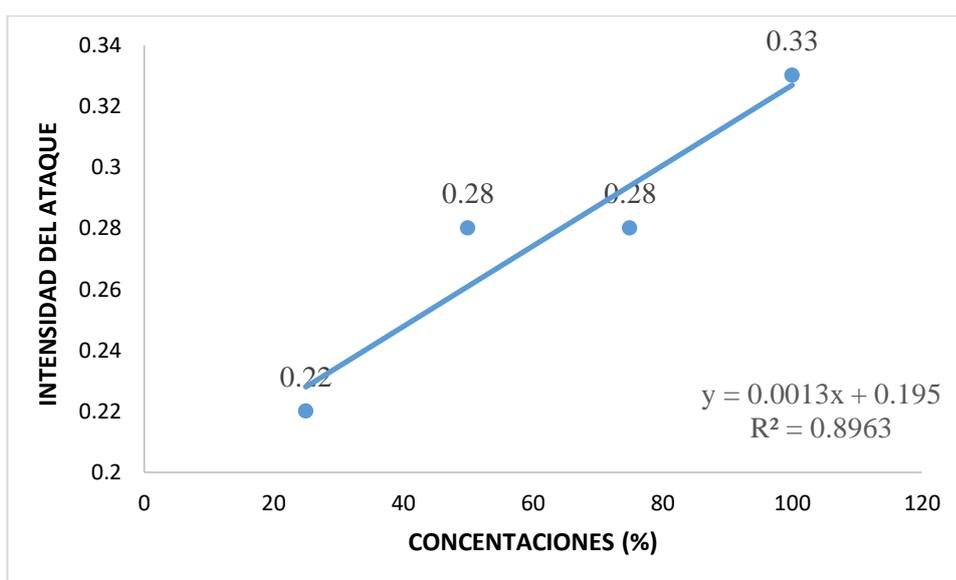


Gráfico 6-3: Curva de regresión lineal de *Fusarium* sp. frente al bioproducto a base de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd).

Realizado por: Pinza Lady, 2020

En el (Gráfico 6-3) se observa las concentraciones al (100%, 75%, 50% y 25%) ensayadas del bioproducto a base de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd frente a *Fusarium* sp., obteniendo como resultado que la mejor concentración para inhibir la intensidad del ataque del hongo se encuentra en la concentración al 25% del bioproducto, obteniendo un 71.79% de inhibición, seguido de las concentraciones al 75% y 50% del bioproducto con un 64.10% de inhibición y la concentración al 100% del bioproducto con un 57.69% de inhibición. Tiene un coeficiente de correlación de 0.8963 y corresponde a la ecuación $y = 0.0013x + 0.195$.

Estos datos no coinciden con Carrillo (2019) ya que obtuvo como resultado que la mejor concentración para inhibir *Fusarium* sp. se encuentra en la concentración al 100%.

Un estudio realizado por Arcos (2017) determinó que al aplicar extracto acuoso de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd), este no presentó inhibición y al contrario el hongo creció aún más en comparación con el control, mencionó también que esto se pudo haber dado debido a que el extracto de saponina contenía además algún tipo de nutrientes diferente a las saponinas lo que hace que este se desarrolle aún más rápido.

3.9.2 Evaluación de la actividad antifúngica del bioproducto frente a *Rhizoctonia* sp.

Tabla 8-3: Porcentaje de inhibición del hongo *Rhizoctonia* sp. presente en las concentraciones del bioproducto a base de saponinas frente al testigo.

Concentraciones (%)	Intensidad del ataque	% de inhibición
100	0.28	64.10
75	0.28	64.10
50	0.33	57.69
25	0.06	92.31
TESTIGO	0.78	

Realizado por: Pinza Lady, 2020

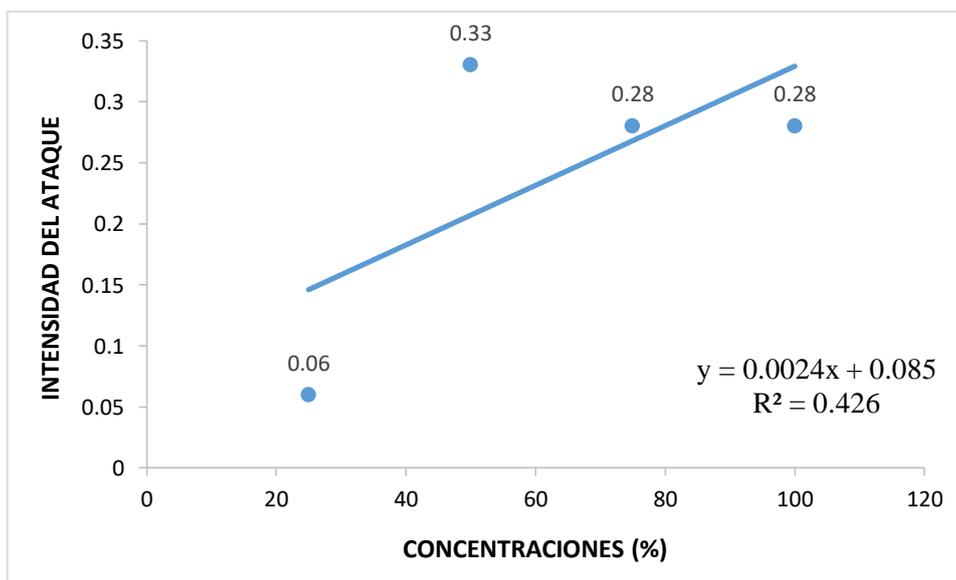


Gráfico 7-3: Curva de regresión lineal de *Rhizoctonia* sp. frente al bioproducto a base de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd).

Realizado por: Pinza Lady, 2020

En el (Gráfico 7-3) se observa las concentraciones al (100%, 75%, 50% y 25%) ensayadas del bioproducto a base de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) frente a *Rhizoctonia* sp., presentaron como resultado que la mejor concentración para inhibir la intensidad del ataque

del hongo se presentó en la concentración al 25% del bioproducto, inhibiendo un 92.31%, seguido de las concentraciones al 75% y 100% del bioproducto con un 64.10% de inhibición y la concentración al 50% del bioproducto con un 57.69% de inhibición. Tiene un coeficiente de correlación de 0.426 y corresponde a la ecuación $y = 0.0024x + 0.085$.

Estos datos no concuerdan con Carrillo (2019) ya que obtuvo como resultado que la mejor concentración para inhibir *Rhizoctonia* sp. está en la concentración al 75%.

3.9.3 Evaluación de la actividad antifúngica del bioproducto frente a *Pythium* sp.

Tabla 9-3: Porcentaje de inhibición del hongo *Pythium* sp. presente en las concentraciones del bioproducto a base de saponinas frente al testigo.

Concentraciones (%)	Intensidad del ataque	% de inhibición
100	0.44	43.59
75	0.11	85.90
50	0.61	21.79
25	0.06	92.31
TESTIGO	0.78	

Realizado por: Pinza Lady, 2020

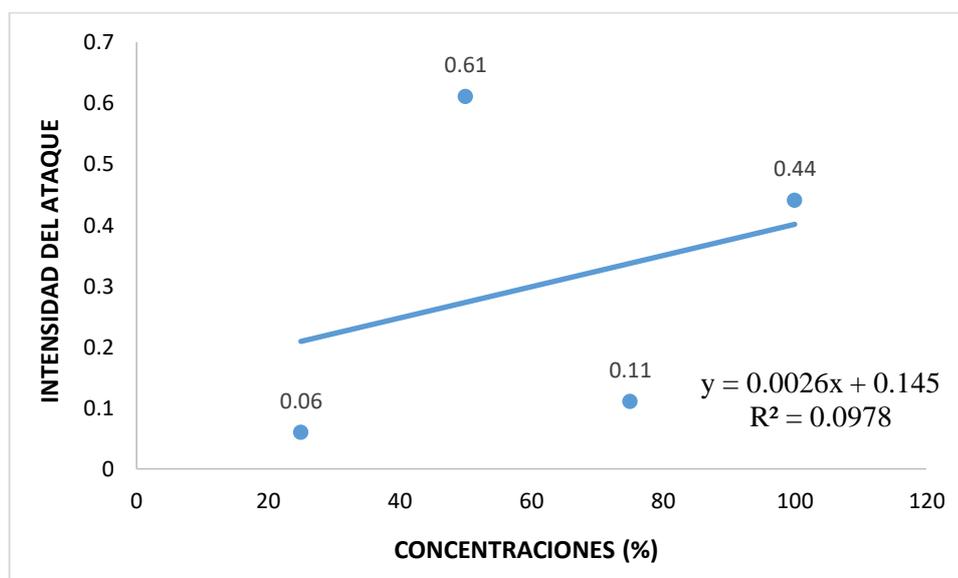


Gráfico 8-3: Curva de regresión lineal de *Pythium* sp. frente al bioproducto a base de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd).

Realizado por: Pinza Lady, 2020

En el (Gráfico 8-3) se observa las concentraciones al (100%, 75%, 50% y 25%) ensayadas del bioproducto a base de saponinas de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd frente a *Pythium* sp., teniendo como resultado que la mejor concentración para inhibir la intensidad del ataque del hongo se presentó en la concentración al 25% de bioproducto inhibiendo en un 92.31%, le sigue las concentraciones al 75% del bioproducto con un 85.90% de inhibición y la concentración al 100% del bioproducto con un 43.59% de inhibición y por último la concentración al 50% de bioproducto con un porcentaje de inhibición del 21.79%, la gráfica presenta un coeficiente de correlación de 0.0978 y corresponde a la ecuación $y = 0.0026x + 0.145$.

Estos datos coinciden con Carrillo (2019) ya que obtuvo como resultado que la mejor concentración para inhibir *Pythium* sp. se encuentra en la concentración del 37.5% con un porcentaje de inhibición del 12%, mientras que las concentraciones al 100%, 87.5% y 50% estimularon el crecimiento del hongo con relación al control.

3.9.4 *Evaluación de la actividad antifúngica del bioproducto frente a Botrytis sp.*

Tabla 10-3: Porcentaje de inhibición del hongo *Botrytis* sp. presente en las concentraciones del bioproducto a base de saponinas frente al testigo.

Concentraciones (%)	Intensidad del ataque	% de inhibición
100	0.33	57.69
75	0.78	0.00
50	0.39	50.00
25	0.06	92.31
TESTIGO	0.78	

Realizado por: Pinza Lady, 2020

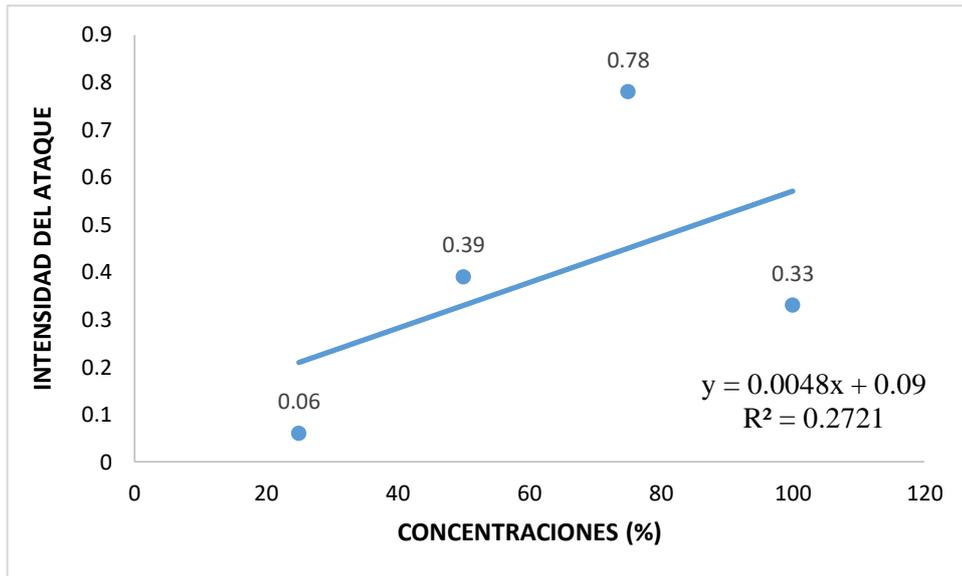


Gráfico 9-3: Curva de regresión lineal de *Botrytis* sp. frente al bioproducto a base de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd).

Realizado por: Pinza Lady, 2020

En el (Gráfico 9-3) se observa las concentraciones al (100%, 75%, 50%, 25%) ensayadas del bioproducto a base de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd frente a *Alternaria* sp., teniendo como resultado que la mejor concentración para inhibir la intensidad del ataque del hongo está en la concentración al 25% del bioproducto, inhibiendo en un 92.31%, le sigue las concentraciones al 50% del bioproducto con un 50.00% de inhibición y la concentración al 100% con un porcentaje de inhibición del 57.69%. La concentración al 75 % frente al testigo no presentó porcentaje de inhibición e incluso estimulo el crecimiento del hongo. La gráfica presenta un coeficiente de correlación de 0.2721 y corresponde a la ecuación $y = 0.0048x + 0.09$.

Estudios realizados por Carillo (2019) obtuvo que las concentraciones al 100%, 87.5%. 75% y 37,5% inhiben el crecimiento del hongo, teniendo como mejor resultado la concentración al 100% con un porcentaje de inhibición de 89.5%, seguido las concentraciones 87.5% (87.3%), 75% (85.1%), 50% (78.22%) y 37.5% (66.32%).

CONCLUSIONES

- El bioproducto a base de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) inhibe hongos fitopatógenos (*Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp.) presentes en plantas de guarango a nivel de vivero, con porcentajes de inhibición que varían entre 92.31% y 21.79% respectivamente para cada hongo fitopatógeno.
- Se determinó que la dosis adecuada del bioproducto a base de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd), frente a *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp. y *Alternaria* sp. es la concentración al 25% del bioproducto (25 ml de saponina + 75 ml de agua) necesaria para inhibir más de la mitad de la intensidad del ataque de los hongos fitopatógenos.
- Las tres frecuencias de aplicación del bioproducto a base de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) fueron mejor de eficaces en comparación con el testigo que no tuvo aplicación alguna durante el tiempo que se realizaron las pruebas en cuanto al resto de tratamientos que se aplicó el bioproducto.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda emplear el bioproducto a base de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) en plantas que desarrollen sintomatologías características del damping off.
- Realizar pruebas de inhibición de las saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) frente a otros hongos fitopatógenos.
- Se recomienda ensayar nuevas concentraciones de saponinas frente a los hongos fitopatógenos de esta investigación con el fin de encontrar el porcentaje de inhibición al 100%.
- Se recomienda realizar la aplicación del bioproducto a bases de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) frente al hongo *Oidium* debido a que durante el ensayo se logró identificar la presencia del mismo y a la vez se logró observar una efectividad del bioproducto frente al hongo.

BIBLIOGRAFÍA

AGRIOS, George. *Fitopatología*. Segunda edición. México: Limusa, 2005, pp. 419-482.

AGRIOS, G. *Fitopatología*. Segunda edición. México: Limusa, 1997, pp. 192-195.

AGRIOS, G. *Fitopatología*. Segunda edición. México: Limusa, 1999, pp. 838.

AHUMADA, Andrés; et al. “Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico”. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm* [en línea], 2016, (Colombia) 45(3), pp. 438-469. [Consulta: 2 Enero 2020]. ISSN 0034-7418. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v45n3/v45n3a06.pdf>

ALENCASTRO, L. Alternativas ecológicas para el control del moho gris (*Botrytis cinerea*) en mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) [en línea] (Trabajo de titulación) (Tercer Nivel). Escuela Politécnica del Ejército. Departamento de Ciencias de la Vida. Sangolguí-Ecuador. 2011. pp. 7-9. [Consulta 11 Enero 2020]. Disponible en: <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/4593/1/T-ESPE-IASA I-00457O.pdf>

APAZA, Rinel; et al. “Efecto de saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd contra el fitopatógeno *Cercospora beticola* Sacc”. *Revista Protección Vegetal* [en línea], 2016, (Cuba) 31(1), pp. 63-69. [Consulta: 7 Febrero 2020]. ISSN 2224-4697. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v31n1/rpv09116.pdf>

ARIAS, Andrea. Fomento a la producción de quinua y sus derivados para la diversificación de exportaciones no tradicionales en el período 2009-2015 [en línea] (Trabajo de titulación) (Tercer Nivel). Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Economía. Quito-Ecuador. 2017. pp.47-48. [Consulta: 6 Marzo 2020]. Disponible en: <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/13681/Disertaci%C3%B3n%20final%20Arias%20Andrea.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ARIAS, Pamela. Extracción de grasas por micro Soxhlet frente a la técnica convencional macro Soxhlet en productos alimenticios de mayor consumo en la ciudad de Quito [en línea] (Trabajo de titulación) (Tercer Nivel). Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito-Ecuador. 2011. pp. 27-28. [Consulta: 13 Enero 2020]. Disponible en:

<http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/3290/T-PUCE-3309.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ARIAS, J., & JEREZ, A. Elaboración de una atlas para la descripción macroscópica y microscópica para hongos fitopatógenos de interés en especies de flores de corte cultivadas en la sabana de Bogotá [en línea] (Trabajo de titulación) (Tercer Nivel). Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias. Bogotá- Colombia. 2008. pp. 25-45. [Consulta: 2 Diciembre 2020]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8230/tesis223.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ARCOS, Jessica. Determinación de la actividad antifúngica de las saponinas de la quinua frente a los agentes causales del damping off (*Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp). (Trabajo de titulación) (Tercer Nivel). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias. Riobamba- Ecuador. 2016. pp. 38-55.

AUGUSTIN, J; et al. “Actividades moleculares, biosíntesis y evolución de saponinas triterpenoides”. *Fitoquímica* [en línea], 2011, (Dinamarca) 72(6), pp. 435-457. [Consulta: 2 Diciembre 2020]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031942211000410?via%3Dihub>

BAKER, Kenneth. *The U.C. System for Producing Healthy Container-Grown Plants: Damping-off and related diseases*. Primera Edición. Australia: University of California Division of Agricultural Sciences, 1957, pp. 34-51.

BARNETT, H., & HUNTER, B. *Illustrated genera of imperfect fungi*. Cuarta edición. Estados Unidos: America Phytopathological Society, 1998, pp. 148-149.

BAZILE, D; et al. *Estado del arte de la quinua en el mundo en 2013* [en línea]. Primera edición. Chile: FAO, 2014. [Consulta: 3 Enero 2020]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i4042s.pdf>

BOJANIC, A. *La quinua: cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial* [en línea]. Primera edición. Bolivia: Organización de las Naciones Unidas – FAO, 2011. [Consulta: 2 Diciembre 2019]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/aq287s/aq287s.pdf>

BONIFAZ, L. Determinación de la actividad insecticida de la saponina de quinua (*Chenopodium quinoa*) hidrolizada y no hidrolizada sobre *Drosophila melanogaster* (Trabajo de titulación) (Tercer Nivel). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias. Riobamba- Ecuador. 2010. pp.43-46.

BONILLA, H; et al. “Determinación de la actividad insecticida de la saponina de la quinua (*Chenopodium quinoa*) en larvas de *Drosophila melanogaster*”. *Scientia Agropecuaria* [en línea], 2019, (Perú) 10(1), pp. 39-45. [Consulta: 11 Febrero 2020]. ISSN 2077-9917. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172019000100004

CALDAS, A. Optimización, escalamiento y diseño de una planta piloto de extracción sólido líquido [en línea] (Trabajo de titulación) (Tercer Nivel). Universidad de Cuenca. Facultad de Ciencias Químicas. Cuenca-Ecuador. 2012. pp. 19-23. [Consulta: 4 Noviembre 2020]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2468/1/tq1111.pdf>

CARRILLO, Leonor. Los hongos de los alimentos y forrajes [en línea] (Trabajo de titulación) (Tercer Nivel). Universidad Nacional de Salta. Salta- Argentina. 2003. pp. 99-118. [Consulta: 3 Febrero 2020]. Disponible en: https://www.academia.edu/6171319/L_eonor_Carrillo._LOS_HONGOS_DE_LOS_ALIMENTOS_Y_FORRAJES_1

CARRILLO, Ivonne. Evaluación para el aprovechamiento de las saponinas de los residuos de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) como inhibidoras de hongos fitopatógenos (Trabajo de titulación) (Tercer Nivel). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Recursos Naturales. Riobamba-Ecuador.2019.

CONIF. “Manual de viveros forestales”. *CONIF* [en línea], 2002, (Colombia) 45, pp. 51-65. [Consulta: 2 Febrero 2020]. ISSN 01210254. Disponible en: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/6701/1/012.pdf>

CUMES, M. Etiología, incidencia, severidad y distribución del tizón de crisantemo, en San Juan Sacatepéquez, Guatemala [en línea] (Trabajo de titulación) (Tercer nivel). Universidad de San Juan Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. Guatemala-México. 2008. pp: 65-66. [Consulta: 28 de Octubre 2020]. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_2395.pdf

DE LA TORRE, Lucía. *La tara, beneficios ambientales y recomendaciones para su manejo sostenible en relictos de bosque y sistemas agroforestales* [en línea]. Quito: CONDESAN, 2018. [Consulta: 5 Febrero 2020]. pp. 40-41. Disponible en: <https://condesan.org/wp-content/uploads/2018/10/Libro-Tara-Condesan-2.pdf>

DÍAZ, M; et al. “Identificación de especies de *Pythium* aisladas de plantas ornamentales”. *Rev. Mexicana de Ciencias Agrícolas* [en línea], 2011, (México) 3(1), pp. 431-443. [Consultado: 5 Febrero 2020]. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v2nspe3/vspen3a3.pdf>

FAO. *Especies arbóreas y arbustivas para las zonas áridas y semiáridas de américa latina* [Blog]. Chile. 1997. [Consulta: 25 de Enero 2020]. Disponible en: http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP_FaoRlc/old/redes/sisag/arboles/Per-caes.htm

FLORES, F; et al. “Identificación de agentes causales de enfermedades en frutales andinos”. *Universidad San Francisco de Quito*, 10, (2017), (Ecuador) pp. 1-22.

FRANCIS, G; et al. “The biological action of saponins in animal systems: a review”. *British Journal of Nutrition*, 88, n° 6 (2002), (Austria) pp. 587-605.

GARCÍA, M; et al. “Descripción de las saponinas en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) en relación con el suelo y el clima: Una revisión”. *Informador Técnico*, 82, n° 2 (2018), (Colombia) pp. 241-249.

GARCÍA, V. *Introducción a la microbiología*. Segunda edición. Costa Rica: EUNED, 2004, pp. 103-107.

GIANNA, Vicente. Extracción, cuantificación y purificación de saponinas de semillas de *Chenopodium quinoa* Willd provenientes del noroeste argentino [en línea] (Trabajo de titulación) (Doctoral). Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Córdoba-Argentina. 2013. pp.32-41. [Consulta: 28 de Octubre 2020]. Disponible en: <https://rdu.unc.edu.ar/handle/11086/1413>

GILMAN, Joseph. *Manual de los hongos*. Primera Edición. México: Continental, 1963, pp. 5-572.

GUZMÁN, Bianca; et al. “Saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd y *Chenopodium pallidicaule* Aellen como biocontroladores de fitopatógenos y agentes de hemólisis”. *Rev.*

Boliviana Química [en línea], 2015, (Bolivia) 32(1), pp. 8-14. [Consulta: 6 Noviembre 2019]. ISSN 0250-5460. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/pdf/rbq/v32n1/v32n1_a02.pdf

HERNÁNDEZ, Ricardo. “Obtención de crudos de saponinas hipocolesteromizantes del *Chenopodium quinoa* Willd”. *Revista Cubana de Medicina Militar* [en línea], 1997, (Cuba) 26(1), pp. 55-62. [Consulta: 25 Febrero 2019]. ISSN 1561-3046. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65571997000100008

HOLT, J., & JUDICA, C. *Diversidad de vida* [blog]. 2016. [Consulta: 6 Febrero 2020]. Disponible en: <https://comenius.susqu.edu/biol/202/taxa.htm>

HORSFALL, James., & COWLING, Ellis. *Plant disease: An advanced treatise*. New York: Academic Press, 1978, pp. 391-412.

ITIS. *Catalogue of life: 2014 Annual Checklist* [blog]. 2014. [Consulta: 18 Diciembre 2019]. Disponible en: www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2014/details/species/id/14066280

INAMHI. *Registro de datos meteorológicos estación: Riobamba Politécnica* [blog]. 2017. [Consulta: 18 Octubre 2019]. Disponible en: <http://186.42.174.236/InamhiEmas/#>

JAMES, Robert. *Forest Nursery Pests: Damping-Off* [en línea]. Primera Edición. Estados Unidos: United States Department of Agriculture, 2012. [Consulta: 4 Enero 2020]. Disponible: https://www.fs.fed.us/rm/pubs_series/wo/wo_ah680.pdf

KOZIOL, Michael. “Afrosimetric estimation of threshold saponin concentration for bitterness in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd)”. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [en línea], 1991, 54(2), pp. 211-219. [Consulta: 25 Febrero 2020]. ISSN 0022-5142. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740540206>

MARTÍN, Paryse; et al. “Estudio de las enfermedades fúngicas en los viveros forestales de castilla y león”. *Semantic Scholar* [en línea], 2001, (España). [Consulta: 12 Enero 2020]. Disponible en: http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:tMipErI9Xs8J:secforestales.org/publicaciones/index.php/congresos_forestales/article/download/15723/15566+&cd=2&hl=es&ct=clnk&gl=ec

McCARTNEY, Nathaniel; et al. “Efectos de la quinua rica en saponina (*Chenopodium quinoa* Willd.) salvado y extracto de salvado en dietas de plagas de quinua adaptadas y no adaptadas en bioensayos de laboratorio”. *Ciencia Investigación Agraria* [en línea], 2019, (Chile) 46(2), pp. 125-136. [Consulta: 2 Octubre 2019]. ISSN 0718-1620. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-16202019000200125

MENA, Licet; et al. “Determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos de *Sapindus saponaria* L. (jaboncillo)”. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* [en línea], 2015, (Cuba) 20(1), pp. 106-116. [Consulta: 13 Marzo 2020]. ISSN 1028-4796. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962015000100010

MINA, D. Evaluación agronómica de líneas f5 de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd), en dos localidades de la serranía [en línea] (Trabajo de titulación) (Tercer grado). Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas. Quito- Ecuador. 2014. pp.4-20. [Consulta: 13 Febrero 2020]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2560/1/T-UCE-0004-78.pdf>

MINISTERIO DEL AMBIENTE. *Plan nacional de forestación y reforestación* [blog]. Chimborazo, 2013. [Consulta 12 Febrero 2020]. Disponible en: <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu155382.pdf>

MURGA, H; et al. “Aspectos biológicos y control de un *gracillárido* (Gracillariidae: Lepidóptera) en *Caesalpinia spinosa*”. *Scientia Agropecuaria* [en línea], 2016, (Perú) 7(2), pp. 93-102. [Consulta: 3 Enero 2020]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172016000200002

MOSTACERO, J; et al. *Plantas medicinales del Perú-Taxonomía, Ecogeografía, Fenología y Etnobotánica*. Primera edición. Trujillo- Perú: Surco, 2011, pp. 909.

NCUBE, B; et al. “A comparative study of the antimicrobial and phytochemical properties between outdoor grown and micropropagated *Tulbaghia violácea* Harv. Plants”. *Journal of Ethnopharmacology*, 134, nº 3 (2011), (Sudáfrica) pp. 775-780.

NÚÑEZ, Carlos. *Extracciones con equipo Soxhlet* [en línea], 2008, pp. 1-5. [Consulta: 16 Diciembre 2020]. Disponible en: <http://cenunez.com.ar/archivos/39-ExtraccinconequipoSoxhlet.pdf>

NUÑEZ, Verónica. El plaguicida orgánico de los residuos del lavado de la quinua (*Chenopodium quinoa*) y los nemátodos en cultivo en papas (*Solanum tuberosum*) en el cantón Quero [en línea] (Trabajo de titulación) (Maestría). Universidad Técnica de Ambato. Ambato-Ecuador. 2017. pp.1- 68. [Consulta: 15 Diciembre 2019]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/25357/1/28%20GPAg.pdf>

PATIÑO, M. Evaluación de métodos de desinfección y medios de cultivo para la multiplicación in vitro de guarango (*Caesalpinia spinosa*) [en línea] (Trabajo de titulación) (Tercer Nivel). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Recursos Naturales. Riobamba-Ecuador. 2011. pp. 4-9. [Consulta: 3 Febrero 2020]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1359/1/33T0095.pdf>

PÉREZ, Dayvi., & GARCÍA, Paula. “Identificación del agente causal del marchitamiento en *Caesalpinia spinosa* “tara” y el efecto antagónico de aislados de *Bacillus* spp. Y *Trichoderma* sp”. *Ecología Aplicada* [en línea], 2019, (Perú) 18(1), pp. 51-57. [Consulta: 18 Febrero 2020]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/ecol/v18n1/a06v18n1.pdf>

PETERSON, Glenn. “Disease problems in the production of containerized forest tree seedlings in North America”. *Great Plains Agricultural Council Publication*, 68, n° 1 (1974), (North America) pp.170-172.

PILDAIN, María., & ERRASTI, Andres. “Hongos patógenos de pinos en la Patagonia y su asociación con plagas entomológicas”. *Manejo Integrado de Plagas Forestales* [en línea], 2011, (Argentina) 12, pp. 3-6. [Consulta: 7 Diciembre 2019]. ISSN 1851-4103. Disponible en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta-_cuadernillo12_-_hongos_patgenos_de_pinos_en_pat.pdf

QUIROZ, Iván; et al. *Vivero forestal: Producción de plantas nativas a raíz cubierta* [en línea]. Primera Edición. Chile: INFOR, 2009. [Consulta: 3 de Enero 2020]. Disponible en: <https://pdfslide.net/documents/vivero-forestal-produccion-de-plantas-nativas-a-raiz-cubierta.html>

RIVAS, L. “*Alternaria* sp”. *Rev. Chilena Infectología* [en línea], 2014, (Chile) 31(5), pp.605-606. [Consulta: 18 Febrero 2020]. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v31n5/art13.pdf>

SCHROERS, H; et al. “Taxonomy and phylogeny of the fusarium dimerum species group”. *The Mycological Society of America* [en línea], 2009, (Estados Unidos) 101(1), pp. 44-70. [Consulta: 12 Diciembre 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.3852/08-002>

SÍLVA, R. M. “Memoria del seminario internacional quinua: un aliado para la erradicación del hambre”. *ALADI*, 2013, (Uruguay) pp.35-42.

STARKEY, T., & ENEBAK, S. *Forest Nursery Pests: Rhizoctonia Blight of Southern Pines* [en línea]. Primera Edición. Estados Unidos: United States Department of Agriculture, 2012. [Consulta: 4 Enero 2020]. Disponible: https://www.fs.fed.us/rm/pubs_series/wo/wo_ah680.pdf

TAPIA, Mario. *La quinua y la kañiwa: Cultivos andinos* [en línea]. Primera edición. Bogotá-Colombia: Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas-IICA, 1979. [Consulta: 20 Diciembre 2019]. Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id=FfemqEmGXysC&printsec=frontcover&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false

TAPIA, Mario., & FRIES, Ana. *Guía de campo de los cultivos andinos* [en línea]. Primera edición. Lima-Perú: FAO – AMPE, 2007. [Consulta: 17 Diciembre 2019]. Disponible en: <https://docs.google.com/viewer?a=v&pid=sites&srcid=ZGVmYXVsdGRvbWVfbnxham9sYW1pZW50b2RlYXJjaGl2b3N8Z3g6NmM2ODE5NmNhODhkMzYxMg>

THOMAS, Landis. “Forest Nursery Notes: Damping-off”. *Forest Service*, 33, n° 1 (2013), (Estados Unidos) pp. 25-32.

VERA, E. Identificación morfológica y molecular de especies de *fusarium* en plantas de nochebuena. (Trabajo de titulación) (Tercer Nivel). Instituto tecnológico de Tehuacán. Tehuacán- México. 2013. pp. 12-25.

WEILAND, J. *Forest Nursery Pests: Pythium Root Rot* [en línea]. Primera Edición. Estados Unidos: United States Department of Agriculture, 2012. [Consulta: 4 Enero 2020]. Disponible: https://www.fs.fed.us/rm/pubs_series/wo/wo_ah680.pdf

ZAPANA, F; et al. *Aplicación de la saponina de quinua (Chenopodium quinoa Willd.) como agente antifúngico en frutas y hortalizas*. Primera edición. Santiago-Chile: VII Congreso Mundial de la Quinua y Otros Granos Andinos, 2019, p.79.

ANEXOS

Anexo A. Distribución del diseño experimental.

CONCENTRACIONES	HONGOS FITOPATÓGENOS	TRATAMIENTOS	REPETICIONES		
			R1	R2	R3
C ₁ (100%)	H ₁ = <i>Fusarium</i> sp	C ₁ H ₁			
	H ₂ = <i>Rhizoctonia</i> sp	C ₁ H ₂			
	H ₃ = <i>Pythium</i> sp	C ₁ H ₃			
	H ₄ = <i>Botrytis</i> sp	C ₁ H ₄			
C ₂ (75%)	H ₁ = <i>Fusarium</i> sp	C ₂ H ₁			
	H ₂ = <i>Rhizoctonia</i> sp	C ₂ H ₂			
	H ₃ = <i>Pythium</i> sp	C ₂ H ₃			
	H ₄ = <i>Botrytis</i> sp	C ₂ H ₄			
C ₃ (50%)	H ₁ = <i>Fusarium</i> sp	C ₃ H ₁			
	H ₂ = <i>Rhizoctonia</i> sp	C ₃ H ₂			
	H ₃ = <i>Pythium</i> sp	C ₃ H ₃			
	H ₄ = <i>Botrytis</i> sp	C ₃ H ₄			
C ₄ (25%)	H ₁ = <i>Fusarium</i> sp	C ₄ H ₁			
	H ₂ = <i>Rhizoctonia</i> sp	C ₄ H ₂			
	H ₃ = <i>Pythium</i> sp	C ₄ H ₃			
	H ₄ = <i>Botrytis</i> sp	C ₄ H ₄			
	Testigo	T ₀	T ₀	T ₀	T ₀

Anexo B. Croquis de la distribución de los tratamientos en la parcela.

REPETICIÓN 2	REPETICIÓN 3	REPETICIÓN 1
T ₆	T ₂	T ₃
T ₁	T ₁₂	T ₀
T ₁₀	T ₁₃	T ₁₄
T ₁₆	T ₁₆	T ₁₁
T ₇	T ₅	T ₅
T ₁₅	T ₆	T ₉
T ₀	T ₁₄	T ₆
T ₁₄	T ₃	T ₁₃
T ₁₁	T ₁₅	T ₁₂
T ₅	T ₈	T ₇
T ₄	T ₀	T ₂
T ₃	T ₁₀	T ₈
T ₁₃	T ₇	T ₁
T ₁₂	T ₄	T ₁₆
T ₂	T ₁₁	T ₄
T ₈	T ₁	T ₁₅
T ₉	T ₉	T ₁₀

Anexo C. Altura de las plantas a los 8 días.

ALTURA DE LAS PLANTAS A LOS 8 DÍAS (cm)																								
TRA.	Repetición 1						TRA.	Repetición 2						TRA.	Repetición 3									
	P1	P2	P3	P4	P5	P6		P1	P2	P3	P4	P5	P6		P1	P2	P3	P4	P5	P6				
T1	5.0	6.2	4.9	5.6	5.0	5.1	5.30	T1	5.4	7.2	4.8	5.8	5.7	4.5	5.57	T1	4.5	5.2	5.2	4.6	5.4	4.1	4.83	5.23
T2	5.5	6.7	7.1	6.5	5.6	4.8	6.03	T2	5.2	5.7	4.9	5.1	6.3	4.9	5.35	T2	4.3	4.7	5.1	6.0	5.6	3.2	4.82	5.40
T3	6.1	5.9	6.1	6.3	4.7	4.9	5.67	T3	4.8	5.1	5.7	4.7	6.7	4.0	5.17	T3	4.1	4.9	6.4	4.6	4.7	4.9	4.93	5.26
T4	4.2	5.1	6.4	7.0	7.7	4.0	5.73	T4	4.1	5.9	5.1	4.8	5.1	4.5	4.92	T4	5.2	4.7	5.0	5.4	5.7	5.3	5.22	5.29
T5	5.4	7.7	5.5	4.8	7.2	5.1	5.95	T5	4.0	4.7	5.0	5.2	6.4	4.7	5.00	T5	3.0	5.7	4.1	5.7	4.2	4.5	4.53	5.16
T6	5.1	6.4	6.5	5.6	5.7	6.4	5.95	T6	5.3	6.4	4.8	5.8	5.0	5.1	5.40	T6	5.3	5.4	5.5	4.6	5.7	6.4	5.48	5.61
T7	6.9	5.6	7.0	5.4	4.0	7.3	6.03	T7	5.0	4.9	4.3	4.3	4.7	5.2	4.73	T7	6.7	5.8	5.4	5.4	5.6	5.8	5.78	5.52
T8	5.3	5.4	5.9	4.9	4.8	4.6	5.15	T8	4.3	6.1	4.0	4.0	5.7	4.1	4.70	T8	6.3	5.4	5.9	4.9	6.8	6.6	5.98	5.28
T9	5.2	6.7	5.6	5.2	4.2	4.3	5.20	T9	5.4	5.4	4.3	4.1	6.1	4.5	4.97	T9	4.2	6.1	5.6	5.2	5.0	4.3	5.07	5.08
T10	4.0	4.9	5.7	4.7	7.5	5.2	5.33	T10	5.4	5.0	4.8	5.3	5.9	4.9	5.22	T10	5.5	5.4	5.7	4.7	5.5	4.7	5.25	5.27
T11	5.7	4.7	5.5	5.2	5.7	7.5	5.72	T11	4.2	5.7	5.1	4.5	4.9	5.6	5.00	T11	5.5	4.9	5.5	5.2	5.2	5.8	5.35	5.36
T12	5.8	5.0	4.8	5.0	4.6	5.4	5.10	T12	3.8	4.0	5.2	5.7	4.7	4.7	4.68	T12	5.8	5.1	4.8	5.0	5.7	5.6	5.33	5.04
T13	5.1	5.2	4.8	5.3	7.0	5.7	5.52	T13	4.2	4.8	5.6	4.9	5.0	4.8	4.88	T13	4.3	4.2	4.8	5.3	5.8	5.9	5.05	5.15
T14	6.2	6.1	5.1	5.5	5.2	7.4	5.92	T14	3.9	3.0	4.1	4.0	4.8	4.1	3.98	T14	5.4	6.3	5.1	5.5	4.2	4.4	5.15	5.02
T15	7.3	6.3	4.8	4.9	4.8	4.9	5.50	T15	4.0	5.4	5.8	5.1	4.9	4.8	5.00	T15	7.4	6.5	4.8	4.9	4.6	3.4	5.27	5.26
T16	4.9	4.6	4.0	5.3	4.9	5.2	4.82	T16	4.3	5.7	4.9	4.8	5.4	5.0	5.02	T16	4.7	4.8	4.0	5.3	5.9	5.5	5.03	4.96
T17	5.2	4.8	4.9	4.7	4.2	5.5	4.88	T17	5.7	4.5	4.2	5.0	4.0	5.6	4.90	T17	4.9	5.0	4.0	4.7	4.6	4.2	4.57	4.78

Anexo D. Altura de las plantas a los 15 días.

ALTURA DE LAS PLANTAS A LOS 15 DÍAS (cm)																								
TRA.	Repetición 1						TRA.	Repetición 2						TRA.	Repetición 3									
	P1	0	P3	P4	P5	P6		P1	P2	P3	P4	P5	P6		P1	P2	P3	P4	P5	P6				
T1	5.0	6.2	4.9	5.6	5.0	5.1	5.30	T1	5.9	7.2	4.8	5.8	5.7	4.8	5.70	T1	4.5	5.2	5.2	4.6	5.4	4.1	4.83	5.28
T2	5.5	6.7	7.1	6.5	5.6	4.8	6.03	T2	5.7	5.7	4.9	5.1	6.3	4.9	5.43	T2	4.3	4.7	5.1	6.0	5.6	3.2	4.82	5.43
T3	6.1	5.9	6.1	6.3	4.7	4.9	5.67	T3	4.9	5.1	5.7	4.7	6.7	4.0	5.18	T3	4.1	4.9	6.4	4.6	4.7	4.9	4.93	5.26
T4	4.2	5.1	6.4	7.0	7.7	4.0	5.73	T4	4.8	5.9	5.1	4.8	5.1	4.5	5.03	T4	5.2	4.7	5.0	5.4	5.7	5.3	5.22	5.33
T5	5.4	7.7	5.5	4.8	7.2	5.1	5.95	T5	4.5	4.7	5.0	5.2	6.4	4.7	5.08	T5	3.0	5.7	4.1	5.7	4.2	4.5	4.53	5.19
T6	5.1	6.4	6.5	5.6	5.7	6.4	5.95	T6	5.7	6.4	4.8	5.8	5.0	5.1	5.47	T6	5.3	5.4	5.5	4.6	5.7	6.4	5.48	5.63
T7	6.9	5.6	7.0	5.4	4.0	7.3	6.03	T7	5.0	4.9	4.8	4.3	4.7	5.2	4.82	T7	6.7	5.8	5.4	5.4	5.6	5.8	5.78	5.54
T8	5.3	5.4	5.9	4.9	4.8	4.6	5.15	T8	4.3	6.5	4.0	4.0	5.7	4.1	4.77	T8	6.3	5.4	5.9	4.9	6.8	6.6	5.98	5.30
T9	5.2	6.7	5.6	5.2	4.2	4.3	5.20	T9	5.4	5.4	4.3	4.1	6.1	4.5	4.97	T9	4.2	6.1	5.6	5.2	5.0	4.3	5.07	5.08
T10	4.0	4.9	5.7	4.7	7.5	5.2	5.33	T10	5.4	5.0	4.8	5.3	5.9	5.2	5.27	T10	5.5	5.4	5.7	4.7	5.5	4.7	5.25	5.28
T11	5.7	4.7	5.5	5.2	5.7	7.5	5.72	T11	4.2	5.7	5.1	4.5	4.9	5.6	5.00	T11	5.5	4.9	5.5	5.2	5.2	5.8	5.35	5.36
T12	5.8	5.0	4.8	5.0	4.6	5.4	5.10	T12	3.8	4.6	5.2	5.7	4.7	4.7	4.78	T12	5.8	5.1	4.8	5.0	5.7	5.6	5.33	5.07
T13	5.1	5.2	4.8	5.3	7.0	5.7	5.52	T13	4.7	4.8	5.6	4.9	5.0	4.8	4.97	T13	4.3	4.2	4.8	5.3	5.8	5.9	5.05	5.18
T14	6.2	6.1	5.1	5.5	5.2	7.4	5.92	T14	4.1	3.3	4.1	4.0	4.8	4.1	4.07	T14	5.4	6.3	5.1	5.5	4.2	4.4	5.15	5.04
T15	7.3	6.3	4.8	4.9	4.8	4.9	5.50	T15	4.4	5.8	5.8	5.1	4.9	4.8	5.13	T15	7.4	6.5	4.8	4.9	4.6	3.4	5.27	5.30
T16	4.9	4.6	4.0	5.3	4.9	5.2	4.80	T16	4.6	5.7	4.9	4.8	5.4	5.0	5.07	T16	4.7	4.8	4.0	5.3	5.9	5.5	5.03	4.97
T17	5.2	4.8	4.9	4.7	4.2	5.8	4.93	T17	5.9	4.5	4.2	5.0	4.0	5.6	4.87	T17	4.9	5.0	4.0	4.7	4.6	4.2	4.57	4.79

Anexo E. Altura de las plantas a los 45 días.

ALTURA DE LAS PLANTAS A LOS 45 DÍAS (cm)																								
TRA.	Repetición 1							TRA.	Repetición 2							TRA.	Repetición 3							
	P1	P2	P3	P4	P5	P6			P1	P2	P3	P4	P5	P6			P1	P2	P3	P4	P5	P6		
T1	6.6	8.5	6.4	7.8	6.6	7.8	7.28	T1	7.0	9.3	6.9	7.7	8.5	5.2	7.43	T1	6.2	7.0	7.4	6.0	6.9	5.4	6.48	7.07
T2	8.5	8.8	9.3	8.9	7.5	6.3	8.22	T2	7.1	7.2	6.9	6.6	8.1	6.1	7.00	T2	5.3	6.2	6.9	7.6	7.8	4.0	6.30	7.17
T3	5.9	8.7	8.0	7.5	6.8	6.8	7.28	T3	5.6	6.9	8.5	6.1	8.4	5.6	6.85	T3	5.6	6.4	8.2	5.4	7.7	6.6	6.65	6.93
T4	7.3	7.3	8.8	9.4	10.9	4.4	8.02	T4	6.0	8.7	6.8	5.9	6.0	5.5	6.48	T4	7.2	5.9	5.9	7.0	7.7	7.0	6.78	7.09
T5	6.1	10.5	6.1	6.3	9.4	7.3	7.62	T5	5.6	6.8	6.0	6.7	8.0	6.5	6.60	T5	5.0	7.1	5	7.2	6.5	6.3	6.18	6.80
T6	9.0	8.7	8.9	8.1	8.2	8.0	8.48	T6	7.0	8.1	6.1	7.8	6.2	6.9	7.02	T6	3.4	6.6	6.8	6.4	7.1	6.9	6.20	7.23
T7	7.2	7.9	9.0	8.6	6.0	9.3	8.00	T7	6.7	5.8	6.4	5.0	5.8	7.6	6.22	T7	7.0	7.6	7	7.3	7.5	6.8	7.20	7.14
T8	7.3	7.3	7.7	5.6	6.9	5.6	6.73	T8	5.5	7.6	4.8	5.2	6.9	6.0	6.00	T8	7.4	6.9	8.5	6.4	8.7	8.2	7.68	6.81
T9	4.7	9.3	6.5	8.3	5.8	6.0	6.77	T9	7.0	7.0	6.0	5.6	7.3	6.1	6.50	T9	8.2	7.0	6.5	6.8	6.9	6.6	7.00	6.76
T10	8.7	6.5	6.8	6.6	9.2	7.0	7.47	T10	7.1	6.6	5.7	6.4	7.0	6.5	6.55	T10	5.6	7.4	6.7	6.1	6.2	5.6	6.27	6.76
T11	7.3	6.7	6.8	7.5	8.4	11.0	7.95	T11	5.4	7.3	5.9	5.0	7.0	7.2	6.30	T11	7.4	6.0	9.1	6.8	4.8	7.3	6.90	7.05
T12	7.1	7.0	6.7	7.2	6.7	7.8	7.08	T12	5.5	5.5	6.8	7.1	5.9	5.5	6.05	T12	7.4	6.9	7.1	8.6	7.2	7.6	7.47	6.87
T13	9.0	7.0	5.5	8.2	8.7	7.5	7.65	T13	6.4	6.5	7.0	6.4	5.1	6.2	6.27	T13	5.7	5.8	7	6.1	8.3	7.5	6.73	6.88
T14	10.5	8.0	6.9	7.8	7.6	7.8	8.10	T14	5.8	4.8	4.7	4.8	6.3	5.0	5.23	T14	7.7	8.0	5.9	9.0	5.1	5.4	6.85	6.73
T15	5.8	8.0	6.7	6.2	6.5	6.4	6.60	T15	5.2	7.2	7.1	6.5	5.0	6.2	6.20	T15	5.7	7.2	4.6	5.1	6.4	4.4	5.57	6.12
T16	7.1	5.2	4.6	7.8	6.6	6.3	6.27	T16	6.2	7.9	6.7	5.2	6.8	6.7	6.58	T16	6.2	5.9	8.1	5.4	8.1	7.8	6.92	6.59
T17	6.5	6.1	6.1	6.2	6.4	7.3	6.43	T17	7.0	6.6	4.6	5.6	5.2	7.1	6.02	T17	6.5	6.6	4.5	7.0	6.1	6.0	6.12	6.19

Anexo F. Intensidad del ataque.

INTENSIDAD DEL ATAQUE																								
TRA.	REPETICIÓN 1							TRA.	REPETICIÓN 2							TRA.	REPETICIÓN 3							
	P1	P2	P3	P4	P5	P6			P1	P2	P3	P4	P5	P6			P1	P2	P3	P4	P5	P6		
T1	0	0	3	0	0	0	0.50	T1	0	0	0	0	0	0	0.00	T1	0	0	0	0	0	3	0.50	0.33
T2	0	0	0	0	0	1	0.17	T2	0	1	0	1	0	1	0.50	T2	1	0	0	0	0	0	0.17	0.28
T3	0	1	0	0	0	1	0.33	T3	0	1	1	1	0	1	0.67	T3	1	0	0	1	0	0	0.33	0.44
T4	0	0	1	1	0	1	0.50	T4	0	1	0	0	1	1	0.50	T4	0	0	0	0	0	0	0.00	0.33
T5	0	0	0	0	0	0	0.00	T5	0	0	0	0	0	3	0.50	T5	0	1	0	0	1	0	0.33	0.28
T6	1	0	0	0	0	1	0.33	T6	0	0	0	0	0	0	0.00	T6	0	1	0	1	0	1	0.50	0.28
T7	0	0	0	0	0	0	0.00	T7	0	0	0	0	0	0	0.00	T7	0	0	1	0	1	0	0.33	0.11
T8	0	0	0	3	0	0	0.50	T8	1	1	1	1	1	4	1.50	T8	0	0	0	0	1	1	0.33	0.78
T9	0	0	0	0	0	0	0.00	T9	1	0	0	1	0	1	0.50	T9	1	0	0	0	0	1	0.33	0.28
T10	1	0	0	0	0	0	0.17	T10	0	0	0	0	0	0	0.00	T10	3	0	1	0	1	0	0.83	0.33
T11	1	0	0	0	0	1	0.33	T11	1	0	0	0	0	2	0.50	T11	0	0	4	0	1	1	1.00	0.61
T12	1	0	0	0	0	0	0.17	T12	0	0	1	1	1	1	0.67	T12	0	0	1	1	0	0	0.33	0.39
T13	1	0	0	0	0	0	0.17	T13	1	0	0	0	0	1	0.33	T13	1	0	0	0	0	0	0.17	0.22
T14	0	0	0	0	0	0	0.00	T14	0	0	0	0	0	1	0.17	T14	0	0	0	0	0	0	0.00	0.06
T15	0	0	0	0	0	0	0.00	T15	0	1	0	0	0	0	0.17	T15	0	0	0	0	0	0	0.00	0.06
T16	0	0	0	1	0	0	0.17	T16	0	0	0	0	0	0	0.00	T16	0	0	0	0	0	0	0.00	0.06
T17	1	0	3	0	1	1	1.00	T17	1	1	0	0	1	1	0.67	T17	1	1	0	1	1	0	0.67	0.78

Anexo G. Evidencias fotográficas.



Fotografía 1. Preparación de las concentraciones del bioproducto.



Fotografía 2. Visita de los tutores.



Fotografía 3. Toma de muestras de suelo.



Fotografía 4. Aplicación del bioproducto en los tratamientos.



Fotografía 5. Visita de control de la investigación.



Fotografía 6. Aislamiento e identificación de los hongos fitopatógenos.



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE
CHIMBORAZO

DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS DEL
APRENDIZAJE



UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS
REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 13/07/2021

INFORMACIÓN DE LA AUTORA	
Nombres – Apellidos: LADY MAGALY PINZA GUALPA	
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL	
Facultad: RECURSOS NATURALES	
Carrera: INGENIERÍA FORESTAL	
Título a optar: INGENIERA FORESTAL	
f. Analista de Biblioteca responsable:	 Firmado electrónicamente por: ELIZABETH FERNANDA AREVALO MEDINA

