

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



CARRERA: INGENIERÍA AGRONÓMICA

USO DE EXTRACTOS DE PENCO AZUL (*Agave americana*) Y HONGOS DE SOMBRERO (*Estrobilurus tenacellus*) COMO PREVENTIVOS DEL TIZÓN TARDÍO (*Phytophthora infestans*) EN EL CULTIVO DE PAPA (*Solanum tuberosum*) VARIEDAD CHAUCHA AMARILLA.

Documento Final del Proyecto de Investigación como requisito para obtener el grado de Ingeniero Agrónomo

AUTOR:

ALEX MARCELO ANDRANGO QUISAGUANO

TUTOR:

Ing. Santiago Espinoza

CEVALLOS - ECUADOR

2017

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

El suscrito, ALEX MARCELO ANDRANGO QUISAGUANO, portador de la cédula de identidad número: 0503738833, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: “USO DE EXTRACTOS DE PENCO AZUL (*Agave americana*) Y HONGOS DE SOMBRERO (*Estrobilurus tenacellus*) COMO PREVENTIVOS DEL TIZÓN TARDÍO (*Phytophthora infestans*) EN EL CULTIVO DE PAPA (*Solanum tuberosum*) VARIEDAD CHAUCHA AMARILLA.”, es original, autentico y personal.

En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.

ALEX MARCELO ANDRANGO QUISAGUANO

DERECHOS DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “USO DE EXTRACTOS DE PENCO AZUL (*Agave americana*) Y HONGOS DE SOMBRERO (*Strobilurus tenacellus*) COMO PREVENTIVOS DEL TIZÓN TARDÍO (*Phytophthora infestans*) EN EL CULTIVO DE PAPA (*Solanum tuberosum*) VARIEDAD CHAUCHA AMARILLA.”, como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Ingeniero Agrónomo, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o de parte de él”.

ALEX MARCELO ANDRANGO QUISAGUANO

“USO DE EXTRACTOS DE PENCO AZUL (*Agave americana*) Y HONGOS DE SOMBRERO (*Estrobilurus tenacellus*) COMO PREVENTIVOS DEL TIZÓN TARDÍO (*Phytophthora infestans*) EN EL CULTIVO DE PAPA (*Solanum tuberosum*) VARIEDAD CHAUCHA AMARILLA”.

REVISADO POR:

Ing. Mg. Santiago Espinoza

TUTOR

Ing. Mg. Paul Ortiz

ASESOR DE BIOMETRÍA

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN:

FECHA

Ing. Mg. Hernán Zurita

PRESIDENTE TRIBUNAL

Ing. Mg. Marco Pérez

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

Ing. Mg. Segundo Curay

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

AGRADECIMIENTOS

A ti Dios, por bendecirme con una gran familia y por guiarme durante el cumplimiento de mis sueños y objetivos.

A los profesores y personal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, que con sus conocimientos y consejos aportaron a mi formación académica.

Al Ing. Mg. Santiago Espinoza, quien me brindo todo su apoyo y conocimiento para terminar con éxito la presente investigación.

Al Ing. Mg. Paul Ortiz, que con su amistad, confianza y conocimientos apporto fehacientemente durante la etapa final de mi formación personal y en el desarrollo del presente trabajo de investigación, infinitas gracias.

A la Ing. Mg. Elizabeth Ibarra por su apoyo durante la ejecución del proyecto de investigación.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional a las que me encantaría agradecerles por haberme compartido su amistad, consejos, apoyo, ánimos y compañía. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

ALEX MARCELO ANDRANGO QUISAGUANO

DEDICATORIA

A Dios, por haberme bendecido y protegido día a día durante mi preparación profesional.

A mis padres, Juan y María, que con su ejemplo de trabajo y lucha constante han sido mi apoyo fundamental para llegar a ser lo que siempre soñé.

A mis hermanos, Franklin, Bairon, Milton que, con su amistad y cariño, han formado parte imprescindible de mi vida.

“Nunca me he considerado como ingeniero, solamente como un promotor y agitador de ideas”.

(Enzo Ferrari)

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Pág.
CAPÍTULO I.....	xii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II	4
REVISIÓN DE LITERATURA O MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	4
2.2 MARCO CONCEPTUAL O CATEGORÍAS FUNDAMENTALES.....	7
2.2.1 P. infestants	7
2.2.2 Solanum tuberosum	13
2.2.3 Extractos vegetales	18
CAPÍTULO III.....	22
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	22
3.1. HIPÓTESIS	22
3.2. OBJETIVOS.....	22
3.2.1. Objetivo General	22
3.2.2. Objetivos Específicos	22
CAPÍTULO IV.....	23
MATERIALES Y MÉTODOS	23
4.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO	23
4.2. CARACTERIZACIÓN DEL LUGAR.....	23
4.2.1. Clima	23
4.2.2. Zona de vida	23
4.3. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS	24
4.3.1. Materiales	24
4.4. FACTORES EN ESTUDIO	24
4.4.1. Especie vegetal y fúngico.....	24

4.4.2. Obtención de extractos	25
4.5. TRATAMIENTOS	26
4.6. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	26
4.7. VARIABLES RESPUESTA	27
4.7.1. Índice de Incidencia (% I)	27
4.7.2. Índice de severidad (%S).....	27
4.7.3. Área foliar	28
4. 8. MANEJO DEL ENSAYO	28
4.8.1.- Obtención de tuberculos semilla.....	28
4.8.2- Preparación del terreno	28
4.8.3- Siembra	29
4.8.4- Fertilización	29
4.8.5- Manejo de plagas y enfermedades	29
4.8.6- Riegos	29
4.8.7- Obtención del extracto vetal y fungico	30
4.8.8- Metodología para el Screening Fitoquímico del extracto vegetal y fúngico.....	31
4.9. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN.....	32
CAPÍTULO V	33
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
5. 1. RESULTADOS	34
5.1.1. Desarrollo del área foliar.....	34
5.1.2. Porcentaje de incidencia y severidad.....	34
5.2. DISCUSIÓN.....	35
CAPÍTULO VI.....	36
CONCLUSIONES, BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS	36
6.1. CONCLUSIONES.....	36

6.2. BIBLIOGRAFÍA.....	37
6.3. ANEXOS.....	40
CAPÍTULO VII.....	42
PROPUESTA.....	42
7.1 TÍTULO.....	42
7.2 DATOS INFORMATIVOS.....	42
7.3 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA.....	42
7.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	42
7.5 OBJETIVO.....	43
7.6 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD.....	43
7.7 FUNDAMENTACIÓN.....	43
7.8 METODOLOGÍA, MODELO OPERATIVO.....	44
7.9 REVISIÓN DE LA EVALUACIÓN.....	44

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>P. infestans</i>	8
Tabla 2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>S. tuberosum</i>	11
Tabla 3. VARIEDADES DE <i>S. tuberosum</i> CULTIVADO EN ECUADOR.....	12
Tabla 4 PRINCIPALES PLAGAS Y ENFERMEDADES DE <i>S. tuberosum</i>	19
Tabla 5. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>A americana</i>	19
Tabla 6. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>E. tenacellus</i>	20
Tabla 7. TRATAMIENTOS	26
Tabla 8. Principales plagas.....	29
Tabla 9. Porcentaje de incidencia.....	33
Tabla 10. Porcentaje de severidad.....	33
Tabla 11. Desarrollo del Area foliar	34
Tabla 12. Screening fitoquímico para los dos extractos utilizados en nuestro ensayo	34

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Molino casero de corona	40
Anexo 2. Recoleccion de <i>A. americana</i>	40
Anexo 3. Recoleccion de <i>E.tenacellus</i>	40
Anexo 4. Interaccion entre los dos extractos.....	41
Anexo 5. Aplicación de los extractos.....	41
Anexo 6. Toma de datos a nivel de laboratorio.....	41

RESUMEN EJECUTIVO

El presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo de evaluar la actividad preventiva a campo abierto de los extractos de *E. tenacellus*, *A. americana* y la interacción entre estos dos extractos en relación 1:1 contra el hongo *Phytophthora infestans*. El experimento se realizó en las propiedades de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica De Ambato.

En el ensayo se utilizó dos métodos de extracción: método de extracción por molido y por licuado. El material fúngico fue recolectado en los bosques de coníferas en los árboles en descomposición. El ensayo fue conducido en un diseño completamente al azar con dos repeticiones y un testigo absoluto, donde se registraron las variables de porcentaje de incidencia, porcentaje de severidad y el desarrollo del área foliar. Los mejores resultados en los parámetros medidos se obtuvieron con el tratamiento P2 menor %I y %S durante los cuatro muestreos realizados, a los 45 días %I: 0,00 y %S: 0,00; a los 60 días %I: 11,15 y %S: 11,90; a los 75 días %I: 13,15 y %S: 39.30, y a los 90 días %I: 14,70 y %S:49.75., sin embargo es necesario mencionar que los otros dos tratamientos también presentaron actividad antifúngica preventiva pero en menor eficiencia para *P. infestans*. Se determinó que la suma del extracto vegetal *A. americana* + el extracto fúngico del *E. tenacellus* contiene metabolitos secundarios como: aceite esencial, alcaloides, cetonas, fenoles, flavonoides, quinonas, saponinas, taninos, terpenos y monoterpenos, los mismos que son atribuidos a propiedades antibacterianas, antifúngicas e insecticidas.

PALABRAS CLAVE: *Phytophthora infestans*, *Solanum tuberosum*, extracto vegetal y fúngico

SUMMARY

The present work was carried out with the objective of evaluating the preventive activity of an open field of extracts of *E. tenacellus*, *A. americana* and the interaction between these two extracts in a 1: 1 ratio against the fungus *Phytophthora infestans*. The experiment was carried out on the properties of the Faculty of Agricultural Sciences of the Technical University of Ambato.

In the test the extraction methods are used: extraction method by grinding and liquefaction. Fungal material was collected in coniferous forests on decaying trees. The trial was conducted in a project with two replicates and an absolute control, where the percentage of incidence, the percentage of severity and the development of the leaf area were recorded. The best results in the measured parameters were obtained with the lowest P2 treatment % I and % S during the four samples performed, at 45 days % I: 0.00 and % S: 0.00; At 60 days % I: 11.15 and % S: 11.90; At 75 days % I: 13.15 and % S: 39.30, and at 90 days % I: 14.70 and % S: 49.75. However, it is necessary to mention that the other two treatments also had preventive antifungal activity but in Lower efficiency for *P. infestans*. It was determined that the sum of *A. americana* extract + the fungal extract of *E. tenacellus* contains secondary metabolites such as: essential oil, alkaloids, ketones, phenols, flavonoids, quinones, saponins, tannins, terpenes and monoterpenes, which are attributed To antibacterial, antifungal and insecticidal properties.

KEY WORDS: *Phytophthora infestans*, *Solanum tuberosum*, vegetal and fungal extract

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El patógeno *Phytophthora infestans* conocido como “Tizón tardío”, durante décadas ha sido uno de los limitantes en cuanto a desarrollo y producción de la papa en el Ecuador y otras partes del mundo que se dedican a la producción de este tubérculo, causando pérdidas anuales de entre el 10% y 15% de la producción (Alvarez, *et al*, 2013).

El “tizón tardío” (*Solanum tuberosum*), originado por *Phytophthora infestans*. Ha contribuido en la disminución en cuanto a rendimiento de la papa. La producción de papa ecuatoriana durante 2014 aumentó en 28.17% con respecto al año 2013, la superficie nacional cosechada disminuyó un 26.69% con respecto al año 2013, debido al clima favorable para el desarrollo del patógeno antes mencionado. (INEC, 2015). Por lo que se ha incrementado el interés por la búsqueda de nuevas alternativas para reducir el mal uso de pesticidas y disminuir los costos de producción. Es el uso de sustancias de origen natural (Tripathi y Dubey, 2004).

El sector agrícola, y particularmente la producción de hortalizas tiene una importancia singular en la agricultura, a nivel mundial y nacional, al considerarse que éstas ocupan el segundo lugar de los productos agropecuarios. Las enfermedades fúngicas son una de las principales causas de pérdidas en hortalizas durante el período de almacenamiento, disminuyendo su valor nutricional, calidad y precio de venta. Generalmente las hortalizas se exponen a diversos tratamientos con productos químicos antes de su almacenamiento; esto contribuye a que las poblaciones de hongos sean cada vez más resistentes, y por lo tanto más difícil de controlar. (Gonzales, M, 2015). Por lo que se busca nuevas alternativas de control y prevención de estos patógenos, con el empleo de extractos vegetales en el marco de una agricultura sostenible, debido a su elevada efectividad, bajo costo y no ser contaminantes del ambiente. Estos bioproductos se caracterizan por la presencia de determinados compuestos como los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lectinas y polipéptidos. Sus mecanismos de acción son variables; la toxicidad de los fenoles en microorganismos se atribuye a inhibición enzimática por oxidación de

compuestos. El modo de acción de los terpenos y aceites esenciales no ha sido dilucidado por completo, pero se postula que pueden causar rompimiento de la membrana a través de los compuestos lipofílicos. De los alcaloides se ha postulado que se intercalan con el ADN, y de las lectinas y polipéptidos se conoce que pueden formar canales iónicos en la membrana microbiana o causar la inhibición competitiva por adhesión de proteínas microbianas a los polisacáridos receptores del hospedero (Cowan, 1999) citado por (Velázquez del Valle *et al.*, 2007).

Russell y sus colaboradores, 1943, descubrieron y aislaron sapogeninas en Agave, y describieron la estructura de 13 sapogeninas esteroidales de diversas especies, incluyendo *Agave scabra*. Además de su conocido efecto antimicrobiano, el *Agave americana*, posee un gran potencial antifúngico. Recientemente se demostró el efecto antifúngico de extractos de *Yucca shidigera* y *Larrea tridentata* contra cepas de *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. También se observó que esos extractos inhibían la producción de toxinas, probablemente como resultado de la falta de crecimiento del hongo. (Lozano *et al.*, 1999) citado por (Gonzales, M, 2015.)

Debido a la elevada presencia de saponinas, taninos, terpenos y entre otros metabolitos secundarios en el extracto de *A. americana* y *E. tenacellus*, se interactuó los dos productos y se evaluó su acción preventiva del tizón tardío (*Phytophthora infestans*) en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) variedad chaucha amarilla.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA O MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Celis *et al.*, 2008, realizaron una recopilación de casos comprobados de la actividad biocida de extractos y sustancias de origen vegetal para el control de arvenses, plagas y enfermedades en el sector agrícola. En su investigación citan a Stauffer *et al.*, 2000, quienes evaluaron los extractos de 98 especies vegetales pertenecientes a 46 familias botánicas; 7 monocotiledóneas; 46 dicotiledóneas; 1 conífera y 2 pteridofitas para determinar su posible efecto fungicida o bactericida, con la factibilidad de ser utilizados en el control de enfermedades en plantas. Nueve de los extractos evaluados: ajo, cebolla, quebracho colorado, agríal, palo santo, chirca, guayaba, eucalipto y pino demostraron inhibición de crecimiento de la bacteria *Xanthomonas campestris*. La inhibición del crecimiento fungoso solo se obtuvo con extractos de ajo y cebolla, así como con el extracto de mamón contra *Colletotrichum sp.* El extracto de ajo tuvo efecto inhibitorio sobre siete especies de hongos; *Penicillium italicum*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium sp.*, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria sp.*, *Colletotrichum sp.* y *Pythium sp.* El efecto de la cebolla fue de menor intensidad y afectó solo a *Fusarium sp.*, *Alternaria sp.*, *Colletotrichum sp.* y *Pythium sp.*

Preciado y Rangel (2006) citado por Solarte, Osorio, Hurtado, y Mejia, 2012 manifiesta que se realizaron aproximaciones en la evaluación del potencial fúngico que tiene el jugo de *Agave americana* en el control de *Phytophthora infestans*, encontrando que esta especie del género *Furcraea spp.*, utilizada principalmente en la extracción de fibras naturales, presenta cualidades fungicidas que pueden ser utilizadas en el manejo de este problema fitosanitario, ya que posee propiedades tensoactivas, plaguicidas y presenta contenidos de esteroides naturales entre los que se han encontrado saponinas y fitoesteroles, componentes que pueden interactuar como limitantes en el crecimiento del patógeno.

El extracto de la planta de cabuya (*Furcraea spp.*) obtenido como un sub producto de la agroindustria de la fibra natural denominada cabuya, está siendo evaluado

recientemente en la búsqueda de un uso potencial, ya que este residuo líquido al carecer de un manejo adecuado genera graves problemas de contaminación en las fuentes hídricas de las zonas figueras de Colombia. Diferentes investigaciones tendientes a evaluar el potencial fungicida de este extracto vegetal, han reportado buenos resultados en laboratorio sobre los fitopatógenos *Colletotrichum gloeosporoides*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium* spp. y *Phytophthora infestans*. (Álvarez, E, Hurtado, A, Salazar, C, Arango, O, Acosta, J. 2013).

Pruebas a nivel *in vitro* desarrolladas en la Universidad de Nariño, demostraron que el extracto fermentado de la especie *Furcraea gigantea* Vent. presenta un efecto de inhibición ante el Oomyceto *Phytophthora infestans*, atribuido a la gran cantidad de metabolitos secundarios presentes en esta *agavaceae*, recomendando la evaluación de este bioinsumo en pruebas *in situ* para confirmar los resultados obtenidos en laboratorio, teniendo en cuenta los estimativos calculados como concentración efectiva cincuenta (EC50) y concentración letal del bioinsumo. (Álvarez, E, Hurtado, A, Salazar, C, Arango, O, Acosta, J. 2013).

En la evaluación del bioinsumo pulverizado de cabuya a una concentración de 10.000 µg mL⁻¹ se determinó que todos los tratamientos tienen efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *P. Infestans* a nivel *in vitro*, frente al testigo T0 y TB. Según la escala de Shattock todos los tratamientos presentan crecimientos por debajo del 10% indicando un nivel de sensibilidad; el testigo bioinsumo de cabuya líquido presentó un nivel intermedio en la escala. El buen efecto del bioinsumo de cabuya pulverizado con respecto al líquido, puede deberse a la concentración de los metabolitos secundarios presentes en esta especie. (Solarte et al., 2012)

Lozano y Muños, 2011 citado por González, Álvarez, M, Moreno, S, Limón, SM Salcedo y Martínez, EC Pérez, Rodríguez (2015) evaluaron la actividad antimicrobiana de extractos de cuatro especies de agave sobre el crecimiento y la morfología de *A. flavus* y *A. parasiticus*. Los resultados indicaron que los extractos de *Agave asperrima* inhibieron el crecimiento de los hongos. Los extractos metanólicos de hojas y flores en una CMI de $0,95 \pm 0,37$ a $1 \pm 0,5$ mg/ml fueron los más activos. Los extractos de *A. americana*, *A. lechuguilla* y *A. tequilana* no fueron capaces de inhibir el crecimiento de hongos. Sin embargo, mediante microscopía electrónica de

barrido pudieron determinar que los extractos de *A. americana* (10 mg/ml), y aquellos de *A. asperima* (a concentraciones más bajas que la CMI), produjeron una extensa red entrelazando las hifas vegetativas, con una profunda reducción en la formación de conidióforos.

Rodríguez *et al.*, 2000, manifiesta en su investigación “Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de hongos fitopatógenos” mencionan que muchas especies botánicas muestran una acción reguladora sobre un gran número de plagas y enfermedades. Este efecto se ha atribuido a la presencia de un grupo de metabolitos secundarios en diferentes partes de las plantas que les confieren una protección natural; por ello se estudiaron la posibilidad que sean utilizados en el manejo integrado de plagas y enfermedades. En su trabajo se obtuvieron extractos hidro-alcohólicos de las especies vegetales: aroma amarillo (*Acacia farnesiana*), escoba amarga (*Parthenium hysterophorus*) y salvia cimarrona (*Pluchea carlinensis*). En la investigación determinaron que los tres extractos tienen elevada actividad anti fúngica sobre el hongo *Pyricularia grisea* y *Phytophthora parasitica* var. *Nicotianae* y la actividad para el resto de los hongos depende del tipo de extracto y el tiempo de evaluación. Adicionalmente, se comprobaron que todos los extractos tenían en su composición química metabolitos de reconocida actividad antimicrobiana. Determinaron que los tres extractos vegetales contienen: flavonoides, fenoles, taninos, aminoácidos y saponinas; excepto el proveniente de la escoba amarga, en los demás también se detectaron quinonas y alcaloides. La inhibición del crecimiento micelial exhibida por los extractos se debe a la presencia de algunos de estos metabolitos, como los flavonoides, que son un grupo de compuestos de amplio rango de actividad biológica, que incluye la actividad antimicrobiana, antiviral, atrayente de polinizadores, protectora de las plantas contra la luz ultravioleta y antioxidantes, entre otras. También los fenoles y taninos son compuestos de reconocida actividad antimicrobiana, antiviral, repelentes de insectos.

El extracto de la planta de Cabuya (*Agave americana*) obtenido como un sub-producto de la agroindustria de la fibra natural, está siendo evaluado recientemente en la búsqueda de un uso potencial, debido a que el residuo líquido al carecer de un manejo adecuado genera graves problemas de contaminación en las fuentes hídrica. Diferentes investigaciones tienden a evaluar el potencial fungicida de este extracto vegetal, han

reportado buenos resultados a nivel de laboratorio sobre los fitopatógenos *Colletotrichum*, *gloeosporoides*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium* spp. y *Phytophthora infestans*. (Alvarez David, Hurtado Mauricio, Salazar Elizabeth, Arango Oscar, 2013).

Olivares *et al.*, 2013, sostienen que el uso de extractos acuosos vegetales como fungicidas naturales para el control de los hongos fitopatógenos, representa una nueva alternativa agroecológica para los agricultores. Por lo cual, se ha realizado la investigación con el objetivo de evaluar el efecto fungicida de 16 extractos de plantas en el control de hongos fitopatógenos. Para la obtención de los extractos se utilizaron 200 g de hojas de cada especie evaluada la cual se licuó con 1000 ml de agua destilada. Las evaluaciones fueron realizadas a partir de las 48 horas, realizando conteo de las colonias de los hongos observados en el medio con el extracto. Los resultados mostraron que, de todos los extractos vegetales probados, solo cuatro de ellos demostraron inhibición significativa del crecimiento del patógeno, estos son: *Syzygium cumini*, *Mespilus germánica*, *Pinus pinea* y *Cassia javanica*. *Salix babilónica*, *Syzygium cumini*, *Mespilus germanica*, *Tamarindus indica*, *Solanum nigrum*, *Passiflora edulis*, y *Anacardium occidentale*. Los extractos de *Mespilus germanica* y *Syzygium cumini* poseen un gran potencial para el control de hongos patógenos. Lo que sugiere que estos pueden ser una alternativa para el manejo integrado de las enfermedades en los cultivos de la zona agrícola.

2.2. MARCO CONCEPTUAL O CATEGORÍAS FUNDAMENTALES

2.2.1. *Phytophthora infestans*

El Tizón tardío es la enfermedad que causa mayor pérdida económica en el cultivo de papa a nivel mundial, es causada por un oomicete denominado *Phytophthora infestans*, que destruye las hojas, los tallos y los tubérculos.

Según Escalante, (2004), citado por Pereira, (2007) El tizón tardío está presente en casi todas las regiones paperas, especialmente en zonas de clima húmedo y frío. Las condiciones ideales para su reproducción y patogenicidad son 80% de humedad

relativa y una temperatura entre 15 y 22 °C, pudiendo destruir totalmente la plantación en poco tiempo.

Según Oyarzun, (2001) citado por Pereira, (2007) manifiesta que de un muestreo de 40 parcelas investigadas en el 2001 en las provincias de Chimborazo y Bolívar, en el centro del país, 12 parcelas fueron abandonadas a causa de la enfermedad. En diferentes evaluaciones sobre incidencia y severidad realizadas, la incidencia del tizón tardío fue del 30 %, con severidades promedios de 5 %. Cabe notar que, entre 1997 y 1999, el avance de la epidemia no pudo ser controlada, a niveles de acción de un 1 % de infección, a pesar de repetidas aplicaciones de fungicidas.

2.2.1.1. Taxonomía

Tabla 1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *P. infestans*

TAXÓN	NOMBRE
Reino:	Fungí
Phylum	Oomycota
Clase:	Oomycete
Orden:	Pythiales
Familia:	Pythiaceae
Género:	Phytophthora
Especie:	Infestans
Nombre científico:	<i>Phytophthora infestans</i>

Fuente: Jaramillo, 2003.

2.2.1.2. Micelio

Son estructuras somáticas (talos) compuestas de filamentos, hialinos (hifas) ramificados y cenocíticos (no septados). El diámetro del micelio (5-8 µm) es variable y depende de la naturaleza física y química del medio y de si el micelio está sobre la superficie aérea, sumergido o dentro de las células hospederas. El micelio raras veces crece simétricamente. Las hifas se ramifican en ángulos aproximados de 90 grados y algunas veces se constriñen en la base. (Jaramillo, 2003).

2.2.1.3. Esporangios y zoosporas

Según Agrios, (1995) citado por Pereira (2007) manifiesta que los esporangios son esporas asexuales que se reproducen sobre pedúnculos llamados esporangioforos, su desarrollo es indeterminado y se ramifican simpodialmente, lo cual es propio de *Phytophthora infestans*. Los esporangios del patógeno son limoniformes y miden entre 29x19 μm a 59x31 μm . Presentan un engrosamiento apical sobre el esporangio, denominado papila, de cuyo extremo emergen las zoosporas. La especie *P. infestans* es semipapilada es decir con una cavidad superficial, cuyo poro es generalmente estrecho (Jaramillo, 2003). Los esporangios germinan casi siempre por medio de zoosporas a temperaturas menores a 12 o 15 °C, en tanto que por arriba de los 15 °C los esporangios germinan directamente produciendo un tubo germinal. Cada uno de los esporangios produce de 3 a 8 zoosporas.

La zoospora está formada por el kinetosoma (cuerpo basal de la zoospora), la zona de transición que une el flagelo con el kinetosoma, y el sistema de microtúbulo, que permite anclar el flagelo a la zoospora. Los anclajes (como raicillas) de los flagelos de *P. infestans*, son significativamente diferentes, pues solo tiene cinco raicillas, mientras que otras especies tienen seis. Una de las raicillas de las zoosporas del patógeno contiene seis microtúbulos en comparación con otras especies que solo presentan cuatro (Jaramillo, 2003; Erwin y Ribeiro, 1996).

2.2.2.4. Ciclo biológico

El genoma de *P. infestans* fue secuenciado en 2009 en el Laboratorio Sainsbury de Norwich (Hass et al., 2009). Su estudio reveló que es extraordinariamente largo, más del doble que las especies oomicetos más cercanas. Este gran tamaño se debe a la enorme cantidad de secuencias repetidas que posee. Los autores describen dos velocidades diferentes en la estructura del genoma, pero la más importante es la capacidad de evolucionar más rápido, lo que permite al hongo adaptarse a las plantas que se vuelven resistentes a la enfermedad. El patógeno, al igual que la mayoría de las especies de oomicetos, puede reproducirse sexual o asexualmente. (Romero, 2015)

2.2.2.5. Epidemiología

Pérez y Forbes, (2008) citado por Romero, N, (2015) señala que este patógeno puede mantenerse de una estación a otra como micelio o esporas (esporangios u oosporas). Las fuentes iniciales que contienen inóculo son normalmente residuos vegetales o tubérculos semilla. En el caso de haberse originado por reproducción sexual, las esporas presentes en el suelo serían la fuente de infección. En condiciones asexuales, los esporangios que se encuentran en hojas y tallos de plantas infectadas pueden ser dispersados por lluvia y el viento, posibilitando la infección de tubérculos existentes en el suelo o de otros hospedadores próximos.

La enfermedad también se desarrolla en el período post-cosecha, a partir de tubérculos infectados, o durante el período vegetativo por lavado de esporangios hacia el suelo y en contacto con partes aéreas de plantas infectadas. Durante su almacenamiento, estos tubérculos enfermos pueden formar brotes que se convierten en fuentes primarias de infección de tubérculos sanos o de un nuevo cultivo si se utilizan como material de propagación vegetativa (Heinfling, 1987) citado por (Romero, 2015).

2.2.1.6. Reproducción

Este patógeno se reproduce de dos maneras como es mediante el ciclo sexual y el ciclo asexual a continuación se detalla los dos procesos de multiplicación o reproducción de *P. infestans*.

2.2.1.6.1. Ciclo asexual

El ciclo asexual involucra únicamente un solo tipo de apareamiento. El conjunto de aislados provenientes de una cepa que se reproduce de forma asexual se conoce como linaje clonal. En este caso no se produce recombinación meiótica, por lo que la variabilidad se originaría por mutaciones (Fry, 2008). Este tipo de reproducción se produce a través de esporangios, zoosporas e hifas. Las zoosporas se forman dentro del esporangio y son estructuras hialinas con morfología limoniforme, conteniendo entre 6 y 10 núcleos en su interior. Su tamaño varía de 36 x 22 μm a 29 x 19 μm , siendo liberadas cuando se rompe la pared esporangial. Se dispersan por el viento, lo que les

permite alcanzar los tejidos de las plantas huéspedes y germinar cuando las condiciones ambientales son favorables (Pérez y Forbes, 2008) citado por (Romero, 2015).

2.2.1.6.2. Ciclo sexual

P. infestans es una especie heterotalia, por lo tanto, necesita dos tipos de apareamiento (A1 y A2) cuya coexistencia espacio-temporal es imprescindible para que se produzca la reproducción sexual. A pesar de ello, la diferencia entre ambos grupos no radica en un dimorfismo sexual, puesto que ambos tipos presentan órganos reproductores masculinos y femeninos en el mismo individuo, sino en la autoincompatibilidad de éstos y la necesidad de una estimulación hormonal del tipo de apareamiento opuesto para que se desencadene este tipo de reproducción (Pérez y Forbes, 2008).

La meiosis ocurre inmediatamente antes del desarrollo de los gametangios, representando el único estado haploide del ciclo de vida de este organismo. La cariogamia se da entre estos dos núcleos haploides, formando una oospora diploide uninucleada de paredes gruesas, que puede servir, además, como estructura de supervivencia para el invierno en las zonas templadas (Smart et al., 2000).

2.2.1.7. Sintomatología

El tizón tardío se comporta como una enfermedad policíclica, desarrollando varios ciclos de reproducción asexual durante una misma campaña de cultivo. La cantidad de inóculo producido depende de múltiples factores como el huésped, el patógeno, el manejo y principalmente las condiciones climáticas. El período de incubación desde la infección hasta la aparición de los primeros síntomas en tallos, hojas y tubérculos, oscila entre dos y tres días, pudiendo causar la destrucción total del cultivo entre siete y diez días si no se adoptan rápidamente medidas de control. (Fry et al., 2008) (Harrison, 1995) citado por (Romero, 2015).

En el campo, los primeros síntomas de infección de la planta suelen evidenciarse en las hojas menores, normalmente en las puntas y los bordes de los folíolos, donde un nimbo verde claro o amarillo suele separar el tejido muerto del sano. Posteriormente,

las lesiones progresan y se pueden visualizarse en forma de manchas de color verde oscuro, pardas o negras (Pérez y Forbes, 2008) citado por (Romero, 2015).

2.2.1.8. Control

Algunos autores plantean que el control sobre *P. cinnamomi* puede lograrse aplicando un conjunto de medidas que forman parte de un programa integral el cual abarca la prevención, las buenas prácticas culturales, medidas de control biológico, el control químico y el uso de patrones resistentes. (Medina, Y, 2000)

- 1) Cultivares resistentes.
- 2) Control cultural.
- 3) Control químico.
- 4) Control biológico utilizando organismos antagónicos.
- 5) Control botánico (Extractos y Aceites vegetales/ fúngicos).

2.2.2. Papa (*Solanum tuberosum*) variedad chaucha amarilla

A continuación, se detalla la revisión bibliográfica de la papa, describiendo su origen, taxonomía y los aspectos agronómicos de importancia para el desarrollo de este cultivo.

2.2.2.1 Origen y Generalidades

La papa (*Solanum tuberosum*), es una planta originaria de América, por lo que es posible encontrarla a través de gran parte del territorio donde la mayoría de los campesinos han tenido algún contacto con ella. Aunque la historia de la papa puede trazarse en el centro de origen del lago Titicaca (Bolivia – Perú) y en el norte del Perú diez siglos atrás. La adaptabilidad de la papa a diversas condiciones de temperatura fotoperiodismo, suelos entre otros y de producir desde los 80 o 90 días en adelante, han hecho que se haya estudiado, en especial fuera de América y que hoy aparezca junto al trigo y maíz (Montaldo, 1984) citado por (Rios, G, 2007)

2.2.2.2. Taxonomía

La taxonomía permite describir, nombrar y clasificar los organismos (Lincoln et al., 1998). La sistemática es una disciplina más amplia que determina relaciones filogenéticas a través de métodos experimentales modernos, basados en la anatomía comparativa, citogenética, ecología, morfología usando datos moleculares (Stuessy, 1990) citado por (Rodríguez, 2009).

Tabla 2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *S. tuberosum*

AXÓN	NOMBRE
Reino	Plantae
División	Fanerógamas
Clase	Dicotiledóneas
Orden	Tubiflorae
Familia	Solanaceae
Género	<i>Solanum</i>
Especie	<i>Solanum tuberosum</i> .
Nombre común	Papa, patata
Variedad	Chaucha amarilla

Fuente: Revelo *et al.*, 2004.

2.2.2.3. Descripción Botánica

La papa es una dicotiledónea herbácea con hábitos de crecimiento rastrero o erecto, generalmente de tallos gruesos y semi-leñosos, con entrenudos cortos. Los tallos son huecos o medulosos, excepto en los nudos que son sólidos, de forma angular y por lo general verdes o rojo púrpura. El follaje normalmente alcanza una altura entre 0.60 a 1.50 m. Las hojas son compuestas y pignadas. Las hojas se ordenan en forma alterna a lo largo del tallo, dando un aspecto frondoso al follaje, especialmente en las variedades mejoradas. (Sherwood, 2002).

Raíz: Las plantas de papa pueden desarrollarse a partir de una semilla o de un tubérculo. Cuando crecen a partir de una semilla, forman una delicada raíz axonomorfa con ramificaciones laterales. Cuando crecen de tubérculos, forman raíces adventicias primero, en la base de cada brote y luego encima de los nudos en la parte subterránea de cada tallo. Ocasionalmente se forman raíces también en los estolones. (Huaman, Z, 1986).

Semillas: Semillas pequeñas de 0.13-0.18 cm largo, numerosas, ovales y comprimidas se un color que va desde blancas, amarillas y pardo amarillas. (SIOVM, 2002).

Fruto: El fruto de la papa es una baya pequeña y carnosa que contiene las semillas sexuales. La baya es de forma redonda u ovalada, de color verde amarillento o castaño rojizo. Posee dos lóculos con un promedio de 200 a 300 semillas por lóculo. En la actualidad, los mejoradores esperan uniformizar la progenie con el fin de obtener una papa con características determinadas. (Sherwood, 2002).

Flor: Diversos factores climáticos, especialmente el fotoperiodo y la temperatura, estimulan la floración. Las flores nacen en racimos y por lo regular son terminales. Cada flor contiene órganos masculinos (androceo) y femenino (gineceo). Poseen cinco pétalos y sépalos que pueden ser de variados colores, pero comúnmente blanco, amarillo, rojo y púrpura. Muchas variedades dejan caer las flores después de la fecundación. (Sherwood, 2002).

Tallos: El sistema foliar de la papa consta de tallos, estolones y tubérculos. Las plantas provenientes de semillas verdaderas tienen un solo tallo principal, mientras que las provenientes de tubérculos se ramifican en varios tallos secundarios. Los tallos pueden ser sólidos o parcialmente tubulares debido a la desintegración de las células de la medula. Las yemas que se forman en el tallo a la altura de las axilas de las hojas pueden desarrollarse para llegar a formar tallos laterales, estolones, inflorescencias y, a veces, tubérculos aéreos. (Huaman, Z 1986).

Estolones: Morfológicamente descritos, los estolones de la papa son tallos laterales que se desarrollan horizontalmente por debajo del suelo a partir de yemas subterráneas de los tallos. Los estolones pueden formar tubérculos mediante un agrandamiento de

su extremo terminal. Sin embargo, no todos los estolones llegan a formar tubérculos. Un estolón no cubierto con suelo, puede desarrollarse en un tallo vertical con follaje normal. (Huaman, Z, 1986).

Hojas: Las hojas están distribuidas en espiral sobre el tallo. Normalmente, las hojas son compuestas, tienen un raquis central y varios folíolos. (Huaman, Z, 1986).

Tubérculos: El tubérculo es un sistema morfológico ramificado, los ojos de los tubérculos tienen una disposición rotada alterna desde el extremo proximal del tubérculo donde va inserto el estolón hasta el extremo distal, donde los ojos son más abundantes. (Rios, G, 2007).

2.2.2.4. Variedades

Las variedades de papa en el Ecuador se pueden clasificar en dos grupos: las variedades nativas o domesticadas y las variedades mejoradas o introducidas. Las variedades nativas más conocidas son: Uvilla, Chaucha amarilla, Leona Negra, Coneja Negra, Puña, Calvache, Chaucha Colorada, Santa Rosa, Carrizo y Coneja Blanca.

Entre las variedades de papas mejoradas se pueden citar a las más comerciales en el Ecuador como son: la super chola, Cecilia, Chola, Gabriela.

Tabla 3. VARIEDADES DE *S. tuberosum* CULTIVADOS EN ECUADOR

NOMBRE	FORMA	COLOR CÁSCARA	COLOR PULPA
Chaucha amarilla	redonda	Amarilla	Amarillo
Cecilia	Oval-elíptica	Rosada áspera	Amarilla pálida
Uvilla	Redondo	Amarilla	Amarillo
Fripapa	Oblonga	Rosado	Amarillo
Gabriela	Ovoide	Rosado intenso	Blanco
María	Redondo	Anaranjado	Blanco

Rosita	Redonda	Roja pálida	Amarillo
Santa Isabela	Redondo-Ovalada	Roja	Amarillo

Fuente: Revelo *et al.*, 2004.

2.2.2.5. Plagas y Enfermedades

En el Ecuador las enfermedades que causan bajas en cuanto a rendimiento son el tizón tardío o gota causado por (*Phytophthora infestans*), el tizón temprano causado por (*Alternaria solani*), Rizoctoniasis causado por (*Rhizoctonia solani*).

Tabla 4. PRINCIPALES PLAGAS Y ENFERMEDADES DE *S. tuberosum*

ENFERMEDAD	AGENTE CAUSAL
Tizón tardío; rancha	<i>Phytophthora infestans</i>
Alternariosis	<i>Alternaria solani</i>
Rizoctoniasis	<i>Rhizoctonia solani</i>
Verruga	<i>Synchytrium endobioticum</i>
Sarna; roña pulverulenta	<i>Spongospora subterranea</i>
Pudrición seca	<i>Fusarium spp.</i>
Nematodo del quiste	<i>Globodera pallida</i>
Gusano blanco de la papa	<i>Premnotrypes vorax</i>
Polilla de la papa	<i>Tecia solanivora</i>
Trips	<i>Frankliniella spp.</i>

(Pérez y Forbes, 2011)

2.2.3. Extractos vegetales

Un extracto vegetal es una mezcla compleja, con multitud de compuestos químicos, obtenible por procesos físicos, químicos y/o microbiológicos a partir de una fuente natural y utilizable en cualquier campo de la tecnología, también puede definirse como una mezcla compleja de compuestos con actividad farmacológica, formada por un principio activo dentro de una matriz, en principio, sin actividad terapéutica. (Pardo, 2002).

Los extractos vegetales son obtenidos por la combinación de materiales vegetales con solventes adecuados como agua, alcohol o éter. Los mismos que actúan como reforzantes o nutrientes que robustecen, estimulan su crecimiento, y a la vez repelen, atraen, inhiben o estimulan a insectos y patógenos fúngicos. Con la aplicación de estos extractos se disminuye la proliferación de organismos para los cultivos. Los mismos que actúan en los organismos patógenos por contacto, ingestión, repelencia, disuasión, anti-alimentarias o alteración del comportamiento. Estos metabolitos secundarios son los componentes finales del metabolismo de las plantas, formados a partir de los metabolitos primarios por procesos biosintéticos, por acción enzimática y bioquímica. Dentro de este grupo se caracterizan los: alcaloides, esteroides, flavonoides, terpenoides, quinonas, etc.) para insumos biológicos deben ser obtenidos como se encuentran en las plantas, recurriendo a procedimientos que no alteren sus propiedades biológicas (CORPOICA, 2002)

2.2.3.1. Acción de los extractos vegetales de uso agrícola

Diversos productos derivados de las plantas han mostrado un efecto antimicrobiano. Entre estos compuestos destacan los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lectinas y polipéptidos. Sus mecanismos de acción son variables; por ejemplo, la toxicidad de los fenoles en microorganismos se atribuye a inhibición enzimática por oxidación de compuestos. El modo de acción de los terpenos y aceites esenciales no ha sido dilucidado por completo, pero se postula que pueden causar rompimiento de la membrana a través de los compuestos lipofílicos. De los alcaloides se ha postulado que se intercalan con el DNA, y de las lectinas y polipéptidos se conoce que pueden formar canales iónicos en la membrana microbiana o causar la inhibición competitiva por adhesión de proteínas microbianas a los polisacáridos receptores del hospedero (Cowan, 1999) citado por (Velázquez del Valle *et al.*, 2007).

2.2.3.2. La Cabuya (*A. americana*)

Es una planta muy común en diferentes regiones tropicales, especialmente Antioquia, Caldas, Risaralda y Nariño, la cabuya se ha caracterizado por su producción y principalmente por ser una fuente de ingresos económicos gracias a su actividad

artesanal, telas, sogas, empaques, entre otros productos derivados de la cabuya. Se aprovecha el 4 % en peso de toda la hoja.

2.2.3.2. Descripción de especies seleccionadas para la obtención de extractos vegetales.

Tabla 5. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *A. americana*

TAXÓN	NOMBRE
Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Dicotiledóneas
Orden:	Asparagales
Familia:	Agavaceae
Género:	Agave
Especie:	<i>Agave tequilana</i>
Nombre común:	Penco Azul, cabuya

Fuente: (Escobar, R, 2009)

Principios activos

Las cabuyas contienen una gran cantidad de saponinas en sus pencas, por esta misma razón la investigación de esta planta se ha enfocado en la purificación y elucidación de estos compuestos. Las saponinas son glicosiladas que se forman por resultado de la hidrólisis ácida o enzimática y según su esqueleto de carbono se pueden clasificar como spirostane, furostane y furospirostane; se caracterizan por su unión con el colesterol. Se dividen principalmente en 3 grupos: triterpenos, esteroides básicos y saponinas esteroidales. Existen varias investigaciones enfocadas en la distribución, aislamiento y caracterización de saponinas y estas involucran la hidrólisis ácida seguida de la caracterización de la aglicona. Al igual se puede utilizar RMN ¹³C como una técnica no destructiva de caracterización de una saponina. (Agrawal, 1985).

2.2.3.3. Hongo de sombrero (*Strobilurus tenacellus*)

A esta seta se la identifica por presentar un sombrero de 3 cm de diámetro, acampanado en un principio y después a plano-convexo. Presenta el estipe de forma cilíndrico, de consistencia tenaz, de color marrón en la parte inferior y más pálido hacia el sombrero. Termina por su zona basal en una falsa raíz muy larga. La carne es blanca de consistencia elástica y bastante tenaz, de olor fúngico suave apenas perceptible y un sabor amargo.

Tabla 6. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *E. tenacellus*

TAXÓN	NOMBRE
Reino:	Fungí
División:	Basidiomycota
Clase:	Homobasidiomycetes
Orden:	Tricholomatales
Familia:	Marasmiaceae
Nombre común:	Hongo de sombrero

Fuente: (www.fungipedia.org/strobilurus).

Principios activos

Las estrobilurinas son productos naturales aislados e identificados a partir de hongos específicos. Las estrobilurinas naturales fueron nombradas en el orden de su descubrimiento como estrobilurina-A seguido de estrobilurina-B, C, D, etc. Su descubrimiento abrió la puerta a la nueva química de los fungicidas sintéticos. Aplicando una relación de actividad estructural cuantitativa (QSAR) sobre las estructuras de las estrobilurinas naturales, muchas empresas de plaguicidas pudieron descubrir muchos análogos sintéticos que son fungicidas más eficaces y más estables. En la actualidad hay alrededor de ocho estrobilurinas sintéticos en el mercado mundial de fungicidas. Algunos de estos productos están registrados en todo el mundo para su

uso como agroquímicos y algunos están en proceso de registro. Esta clase de fungicidas es relativamente nueva, ya que los productos de protección de cultivos y la información sobre ellos sigue siendo bastante escasa. En esta revisión, se discuten las síntesis y la química de estrobilurinas naturales y sintéticas. También se discuten el modo de acción, la eficacia, la degradación biótica / abiótica, los métodos analíticos y los usos agrícolas. (Anke et al., 1977).

Las estrobilurinas son una nueva familia de fungicidas de origen natural. Su descubrimiento fue inspirado por un grupo de fungicidas naturales derivados del ácido β -metoxiacrílico, estas moléculas son producidas por una amplia gama de hongos basidiomicetos que crecen en la madera en descomposición. El primer miembro de esta familia de productos naturales fue la estrobilurina A, originalmente llamada "mucidin", descubierta en la década de los 60 por Mulisken et al., quienes la obtuvieron de *Oudemansiella mucida* (hongo de porcelana), un hongo que crece en el tronco de las hayas. Sin embargo, la estructura de la estrobilurina A no fue asignada hasta finales de 1977, cuando T. Anke y colaboradores la aislaron e identificaron, junto con la estrobilurina B, del micelio de la cepa *Estrobilurus tenacellus*, un hongo saprófito que crece en las piñas de las coníferas (Clough, 1993) citado por (Anke et al., 1977)

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. HIPÓTESIS

La aplicación de extractos de Cabuya (*Agave americana*) y hongos de sombrero (*Estrobilurus tenacellus*) previenen la infestación del tizón tardío (*Phytophthora infestans*) en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) variedad Chaucha amarilla.

3.2. OBJETIVOS

3.2.1. Objetivo General

Evaluar la actividad preventiva de los extractos de la Cabuya (*Agave americana*) y el hongo de sombrero (*Estrobilurus tenacellus*), y su interacción en relación 1:1, para prevenir la proliferación del tizón tardío (*Phytophthora infestans*) en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) variedad chaucha amarilla.

3.2.2. Objetivos Específicos

- Determinar la eficiencia en prevención de los extractos para *P. infestans*.
- Identificar en forma cualitativa los metabolitos secundarios presentes en los extractos, vegetal y fúngico

CAPÍTULO IV

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO

La investigación se llevó a cabo en la Granja Experimental Docente "Querochaca" propiedad de la Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias, ubicada en el cantón Cevallos, provincia de Tungurahua. Sus coordenadas geográficas son 01° 21' de latitud Sur y 78° 36' de longitud Oeste, a la altitud de 2865 msnm.

4.2. CARACTERIZACIÓN DEL LUGAR

4.2.1. Clima

Según los datos registrados en la estación meteorológica de la Granja Experimental Docente Querochaca, el clima está clasificado como templado-frío semi-seco. Los valores promedios anuales de la estación meteorológica, de los años 2010 al 2012, son los siguientes: temperatura media anual 13,1° C, temperatura máxima anual 19,3 °C, temperatura mínima anual 7,3 °C, precipitación media anual 499,1 mm, humedad relativa 71,5%, nubosidad 7 octavos y velocidad del viento 2,9 m/s. (Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología, 2014).

4.2.2. Zona de vida

De acuerdo con la clasificación de las zonas de vida realizada por Holdridge, 1979 el sector donde se asienta la Granja Experimental Docente Querochaca, se encuentra en la región estepa. Espinoso Montano Bajo (ee-MB) en transición con el bosque-seco Montano bajo (bs-MB).

4.3. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

4.3.1. Materiales

- Tubérculos de papa variedad Chaucha amarilla
- Herramientas de labranza (azadón, rastrillo)
- Bomba de mochila
- Equipo de protección
- Licuadora domestica
- Fertilizantes (18-46-00 y 8-20-20)
- Insecticida (decís)
- Libro de campo
- Balanza
- Flexómetro
- Piola
- Estacas
- Rótulos
- Material vegetal:
 - Hojas de Penco azul (*Agave americana*)
- Material fúngico
 - Hongos de sombrero (*Estrobilurus tenacellus*)
- Agua purificada

4.4. FACTORES EN ESTUDIO

4.4.1. Especie vegetal y fúngico

En el presente trabajo de investigación los factores de estudio fueron:

- Penco azul (*Agave americana*)
- Hongo de sombrero (*Estrobilurus tenacellus*)
- Interacción entre la especie vegetal y la especie fúngica mencionada anteriormente en relación 1:1.

4.4.1. Obtención de extractos

4.4.1.1 Obtención del extracto de Cabuya (*Agave americana*)

Dado que la literatura no reporta eficiencias y rendimientos obtenidos por los diversos métodos de extracción de los zumos a nivel de laboratorio, se pretende evaluar un método casero de la extracción del zumo de *Agave americana*.

Extracción directa por molido.

Usando un molino manual de granos CORONA (compuesto de dos discos de triturado y una manivela que hace girar un tornillo sinfín que arrastra el material crudo hacia los discos), se coloca los pedazos de penca de 4 cm de lado, sin corteza en el molino. Una vez molida la penca, el zumo obtenido se coló en un cedazo plástico de 1 mm de tamaño de poro esterilizado en autoclave y, posteriormente, fue filtrado a través de 8 capas de gasa quirúrgica, organizadas de forma aleatoria. (Lozano, A. 2014).

4.4.1.2. Obtención del extracto del hongo de sombrero (*Estrobilurus tenacellus*).

Extracción por licuado

Los hongos recolectados se pesarán en una balanza analítica y se coloca en una licuadora doméstica; se licua durante 1 minuto a velocidad constante del motor. Una vez obtenido el extracto acuoso, este será colocado en un recipiente ámbar y se lo dejará reposar por 6 días en absoluta oscuridad. (Lozano, A. 2014).

4.5. TRATAMIENTOS

Los tratamientos aplicados y que resultan de la combinación de los factores en estudio se presentan en la Tabla 7:

Tabla 7. TRATAMIENTOS

No.	TRATAMIENTOS	DESCRIPCIÓN
------------	---------------------	--------------------

1	P1	Extracto vegetal de Penco azul (<i>Agave americana</i>)
2	P2	Extracto fúngico de hongo de sombrero (<i>Estrobilurus tenacellus</i>)
3	P3	Interacción entre los dos extractos en relación 1:1
4	T	Testigo absoluto

4.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño experimental de bloques completamente al azar con tres tratamientos, dos repeticiones y un testigo absoluto.

Diseño del ensayo en campo

TESTIGO	P3R1	P2R1	P1R1
	P1R2	P2R2	P3R2

4.7. VARIABLES RESPUESTA

Las variables respuesta se midieron a los 45, 60, 75 y 90 días

4.7.1. Índice de incidencia

La incidencia de una enfermedad describe la proporción de individuos infectados dentro de una población de hospederos, mientras que la severidad de la enfermedad describe la proporción de tejido del hospedero que muestra síntomas. el porcentaje de

incidencia se estima al dividir el número de muestras positivas para el número total de muestras tomadas y el resultado multiplicado por 100. (Revelo, J, 2007).

$$\text{Indice de incidencia} = \left(\frac{\text{numero de plantas afectadas}}{\text{numero total de plantas}} \right) * 100$$

4.7.2. Índice de severidad

Es una estación visual en la cual se establecen grados de infección en una determinada planta, sobre la base de la cantidad de tejido vegetal enfermo. Es subjetiva y hace referencia al % del área necrosada o enferma de una hoja, fruto, espiga, etc. Es el parámetro que mejor está relacionado con la gravedad de la enfermedad y con los daños causados. La severidad es más apropiada para Royas, Oídios, y Manchas porque son enfermedades localizadas, cuyo efecto en la disminución del rendimiento dependerá del área foliar afectada. (Revelo, J, 2007).

$$\text{Indice de severidad} = \left(\frac{\% \text{ area infectada}}{\text{area total de la planta}} \right)$$

4.7.3. Área foliar

La determinación de las áreas foliares es muy utilizada para investigaciones agrícolas, permitiéndonos conocer si dicha área fue beneficiada o perjudicada por la aplicación de extractos vegetales y fúngicos utilizados como preventivos del patógeno a investigar.

Para la determinación del área foliar en nuestra investigación se utilizó el programa libre Imagej. La cual consiste en:

- Para las imágenes de hojas de cada cámara, se abrió una fotografía en el software libre ImageJ (Versión 1.45) y se fijó una medida de referencia de tamaño para los análisis posteriores.
- Para ello, sobre la fotografía visible en la pantalla se trazó con el ratón del computador una línea de referencia sobre la marca de 2 cm dibujada anteriormente sobre el papel rosado.
- Luego se usaron secuencialmente los comandos Analyze> Set Scale> Known distance: 2, Unit of length: cm, Global scale.
- Para procesar imágenes se usaron los comandos: Process> Binary> Make binary. Cuando la imagen de la hoja no apareció negra sobre fondo blanco, se invirtió la imagen con los comandos Edit>invert.

4. 8. MANEJO DEL ENSAYO

4.8.1. Obtención de tubérculos semilla

Los tubérculos se obtuvieron del mercado de papas del Cantón Salcedo Provincia de Cotopaxi, para el ensayo se adquirió un saco de redroja de 100 lb sin desinfección alguna.

4.8.2. Preparación del terreno

Se realizó un rastrado antes de surcar, dividiendo el terreno en parcelas de: 5*5m con un área de 25 m² cada una obteniendo así un área neta de 250 m² para las dos repeticiones más el testigo. Realizando surcos a un espaciamiento de 100 cm entre surco y colocando los tubérculos a una distancia de 50 cm entre hoyo.

4.8.3. Siembra

Se colocó dos semillas por hoyo, utilizando 100 tubérculos por cada parcela o para cada tratamiento.

4.8.4. Fertilización

Se fertilizo a los 35 días desde la siembra al observar que los tubérculos ya habían emergido más del 90% de cada parcela, y la segunda fertilización se dio a los 75 días.

4.8.5. Manejo de plagas

A los 15, 45, 75 días después de la germinación se aplicó decís (cipermetrina) para controlar las plagas presentes en nuestro ensayo.

Tabla 8.- Principales plagas

Enfermedades y Plagas	Nombre científico
Gusano blanco	<i>Premnotrypes vorax</i>
Polilla guatemalteca	<i>Tecia solanivora.</i>
Pulgón	<i>Aphis gossypii</i>

Fuente: (Trujillo y González, 2009)

4.8.6. Riegos

Los riegos se dieron con intervalos de 8 a 15 días dependiendo de las condiciones medio ambientales durante el ciclo del cultivo.

4.8.7. Obtención del extracto vegetal y fúngico

Para los dos casos que se exponen se utilizó la metodología propuesta por Lozano, A (2014), la cual se describe a continuación:

Obtención directa por molido

Agave americana

Usando un molino manual de granos CORONA se colocó en su interior pedazos de la cabuya sin corteza. para triturarlos y obtener dos subproductos: El bagazo y el zumo de las hojas; el, zumo se percoló utilizando un cedazo plástico de poros de 1mm, previamente esterilizado en la autoclave, y el bagazo se lo filtro a través de 8 capas de gasa quirúrgica, organizadas de forma aleatoria, hasta obtener el resto de zumo del bagazo. Este zumo fue colocado en recipientes de plástico y almacenados en oscuridad por 6 días.

Obtención del extracto por licuado

Estrobilurus tenacellus

Se recolectó este hongo de los árboles de pino en descomposición, con la ayuda de una balanza analítica se pesó 1 libra de este material y se licuo con un 1 litro de agua purificada a una velocidad constate durante 1 minuto. El extracto obtenido se colocó en frascos ámbar de vidrio y almacenados durante 6 días en oscuridad.

4.8.8. Metodología para el Screening Fitoquímico de extractos vegetales y Fungicos.

Alcaloides

Método de Dragendorff. - Si la alícuota del extracto está disuelta en un solvente orgánico, éste debe evaporarse, en un baño de agua y el residuo redisolverse en 1 ml de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado. Con la solución acuosa ácida se realiza el

ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo y los resultados serán: si existe un precipitado será por la gran cantidad de alcaloides presente (+++), una turbidez por la baja concentración de alcaloides (++) y una opalescencia es por una pobre presencia de alcaloides (+).

Saponinas

Espuma. - Si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5–10 min para obtener los resultados así: si aparece espuma (+) pobre presencia de este metabolito, media espuma (++) , alta cantidad de espuma (+++).

Compuestos fenólicos y taninos

Cloruro Férrico (FeCl_3). - Si el extracto es acuoso se añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica A una alícuota del extracto alcohólico se adiciona el reactivo. Si se torna una coloración rojo-vino (+) poca presencia de estos metabolitos, verde intenso (++) una cantidad regular de metabolitos y si se torna de un color azul (+++) es por la gran cantidad de estos metabolitos secundarios en la muestra.

Flavonoides

Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 ml de ácido Clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico, se espera 5 minutos, se añade 1 ml de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen. Cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo (+) poca presencia de estos metabolitos, naranja (++) una buena presencia de metabolitos y si se torna un color rojo (+++) nos indica una abundante presencia de fenoles en el extracto.

Aceite esencial

Sudan. - Se le añade 1 ml de una solución diluida en agua del colorante Sudan III o Sudan IV. Se calienta en baño de agua hasta evaporación del solvente. + Presencia de

gotas o una película coloreada de rojo. (+) Coloración leve (++) Coloración media (++++) Coloración intensa.

4.9 APLICACIÓN DE LOS EXTRACTOS

La aplicación se llevó a cabo por pulverización con la ayuda de una bomba de mochila utilizando las dosis de 375ml por 5 litros de agua para cada tratamiento.

4.10. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

Para la interpretación de los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación se utilizó el ANÁLISIS DE VARIANZA (ADEVA) y la prueba de comparación de medias de Tukey al 5%, aplicando el Software Estadístico INFOSTAT.

CAPITULO V

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5. 1. RESULTADOS

Tabla 9. Porcentaje de incidencia

PORCENTAJE DE INCIDENCIA (%I)							
DÍAS	P1	P2	P3	T	E. E	C.V	P-valor
45	8,00 a	5,00 a	0,00 a	20,00 b	1,29	27,78	0,011
60	23,25 bc	16,2 ab	11, 15 a	32,70 c	1,29	10,26	0,0091
75	36,5 b	25,20 ab	13, 15 a	50,50 c	1,67	8,3	0,0031
90	38,60 b	25,60 ab	14, 70 a	78,40 c	2,23	9,53	0,0022

*Valores con la misma letra en la misma columna son estadísticamente iguales (Tukey, $P < 0,05$). CV: Coeficiente de Variación. EE: Error Estándar. P valor: Probabilidad. TR: los tratamientos realizados. A(cm²): Área en centímetros cuadrados. % I: Porcentaje de incidencia. %S: porcentaje de severidad.

El porcentaje de incidencia de *P. infestans* a los 60 días fue reducido 21,55 puntos porcentuales en relación al Testigo, por la aplicación de P3, de igual manera, a los 75 y 90 días el %I de tizón tardío fue leve, con medias de 13,15% y 14,70%, respectivamente. Probablemente por la presencia de compuestos terpénicos y fenólicos, capaces de afectar la permeabilidad de las membranas, provocando trastornos metabólicos, inhibición el crecimiento micelial (Gende et al. 2008).

Tabla 10. Porcentaje de severidad

PORCENTAJE DE SEVERIDAD (%S)							
DIAS	P1	P2	P3	T	E. E	C.V	P-valor
45	1,07 bc	0,39 b	0,00 a	1,84 c	0,13	26,31	0,0104
60	23,60 b	16,70 ab	11,90 a	53,60 c	0,96	6,03	0,0005
75	51,00 b	44,1 ab	39,30 a	82,20 c	0,96	2,71	0,0005
90	61,35 b	54,65 ab	49,75 a	92,30 c	1,11	2,59	0,0007

*Valores con la misma letra en la misma columna son estadísticamente iguales (Tukey, $P < 0,05$). CV: Coeficiente de Variación. EE: Error Estándar. P valor: Probabilidad. TR: los tratamientos realizados. A(cm²): Área en centímetros cuadrados. % I: Porcentaje de incidencia. %S: porcentaje de severidad.

En la variable %S el tratamiento P3 brindo el mayor control de *P. infestans* durante las cuatro observaciones realizadas, con medias de 11,90%, 39,30% y 54,75% a los 60,75 y 90 días, respectivamente.

Tabla 11. Desarrollo del área foliar

AREA FOLIAR							
DIAS	P1	P2	P3	T	E. E	C.V	P-valor
45	1167,09 a	1024,45 a	844,86 a	436,01 b	128,68	23,03	0,2199
60	1167,09 a	1287,21 a	1126,48 a	848,01 ab	123,94	15,32	0,3914
75	993,27 a	1312,05 a	1154,32 a	856,38 ab	130,2	16,58	0,3299
90	998,87 a	1414,05 a	1157,04 a	857, 21 ab	129,52	16,45	0,331

*Valores con la misma letra en la misma columna son estadísticamente iguales (Tukey, $P < 0,05$). CV: Coeficiente de Variación. EE: Error Estándar. P valor: Probabilidad. TR: los tratamientos realizados. A(cm²): Área en centímetros cuadrados. % I: Porcentaje de incidencia. %S: porcentaje de severidad.

En las tres mediciones realizadas no se registraron diferencias significativas entre los tratamientos, sin embargo, el tratamiento P2 registro la mayor área foliar, con medias de 1287,21 cm² (60 días), 1312,05 cm² (75 días) y 1414,05 cm² (90 días).

Tabla. 12. Resultados del Screening fitoquímico realizados a los dos extractos utilizados en nuestro ensayo.

COMPUESTO	<i>A. americana</i>	<i>E. tenacellus</i>	Interacción
Aceite esencial	+	+++	++
Saponinas	+++	+	++
Terpenos	++	+	+++
Fenoles	+++	++	+++
Taninos	+	+	+
Flavonoides	+	++	++

(+) Baja presencia del compuesto; (++) Moderada presencia del compuesto; (+++) Alto contenido de metabolitos en el extracto.

Se puede observar en la Tabla 12 que la *A. americana* presenta un alto contenido en saponinas y fenoles, contenido moderado de terpenos y un bajo contenido en aceites esenciales, taninos y flavonoides. La presencia de los metabolitos secundarios presentes en las plantas, se debe posiblemente al desarrollo de diversos mecanismos de defensa (metabolitos secundarios) frente a circunstancias adversas de tipo biótico y abiótico.

Se puede observar en la tabla 12 que el *E. tenacellus* presenta un alto contenido en aceites esenciales, contenido moderado de fenoles y flavonoides y un bajo contenido en taninos, saponinas y terpenos. La presencia de los metabolitos secundarios presentes en las plantas, se debe posiblemente al desarrollo de diversos mecanismos de defensa (metabolitos secundarios) frente a circunstancias adversas de tipo biótico y abiótico.

Se puede observar en la Tabla 12 que la interacción de los extractos presenta un alto contenido en terpenos y fenoles, contenido moderado de flavonoides, saponinas y aceites esenciales y un bajo contenido en, taninos. La presencia de los metabolitos secundarios presentes en las plantas, se debe posiblemente al desarrollo de diversos mecanismos de defensa (metabolitos secundarios) frente a circunstancias adversas de tipo biótico y abiótico.

5.1.2. Porcentaje de Incidencia y Severidad

El tratamiento P3 reveló menor %I y %S durante los cuatro muestreos realizados, a los 45 días (%I: 0,00 y %S: 0,00); 60 días (%I: 11,15 y %S: 11,90); a los 75 días (%I: 13,15 y %S: 39,30), y a los 90 días (%I: 14,70 y %S: 49,75). Según, Bolívar et al., 2009 el efecto de prevención de *P. infestans* puede ser debido al contenido de metabolitos secundarios de los extractos aplicados como son: Compuestos terpénicos, fenólicos, saponinas, aceites esenciales y alcaloides, los mismos que poseen la capacidad de afectar la permeabilidad de la membrana del patógeno, provocando trastornos metabólicos en el citoplasma celular.

5.2. DISCUSIÓN

Los mejores resultados se obtuvieron con la interacción de los dos extractos en relación 1:1 y con el extracto de *E. tenacellus*. De acuerdo a Bolívar *et al.*, (2009) manifiesta que el efecto de prevención a *P. infestans* puede ser por la presencia de metabolitos secundarios de los extractos aplicados: (compuestos terpénicos, fenólicos, alcaloides y saponinas, capaces de afectar la permeabilidad de la membrana del patógeno, provocando trastornos metabólicos e inhibición del crecimiento micelial) (Gende *et al.*, 2008). En el caso de la interacción se obtuvo la mayor capacidad anti fúngica en prevenir la presencia de nuestro patógeno en estudio., el menor porcentaje de incidencia obtenido fue a los 45 días sin rastro alguno del patógeno.

Estos resultados podrían deberse a la presencia de Estrobilurinas en la solución obtenida al mezclar el extracto de *E. tenacellus* y *A. americana* en relación 1:1. Ya que según Anke, F (1997) manifiesta que las estrobilurinas se disuelven con facilidad en soluciones alcohólicas y como mezclamos el extracto de *A. americana* que contiene elevada presencia de fenoles podría dar lugar a la presencia de las estrobilurinas en nuestra solución las mismas que inhiben el desarrollo micelial del patógeno en nuestro caso *P. infestans*.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES, BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS

6.1. CONCLUSIONES

Al finalizar la investigación acerca del “USO DE EXTRACTOS DE PENCO AZUL (Agave americana) Y HONGOS DE SOMBRERO (*Estrobilurus tenacellus*) COMO PREVENTIVOS DEL TIZÓN TARDÍO (*Phytophthora infestans*) EN EL CULTIVO DE PAPA (*Solanum tuberosum*) VARIEDAD CHAUCHA AMARILLA.” se concluyó que:

- Los extractos de *Estrobilurus tenacellus* y *Agave americana* presentan actividad preventiva frente al patógeno *Phytophthora infestans* en el cultivo de papa (*S. tuberosum*).
- El tratamiento P3 (extractos de *Estrobilurus tenacellus* + *Agave americana* en relación 1:1) reveló el menor %I y %S durante los cuatro muestreos realizados, a los 45 días (%I:0,00 y %S:0,00), a los 60 días (%I: 11,15 y %S: 11,90); a los 75 días (%I: 13,15 y %S: 39,30), y a los 90 días (%I: 14,70 y %S: 49,75). Dichos resultados pueden deberse a su contenido de terpenos, fenoles y alcaloides; capaces de afectar la permeabilidad de la membrana del patógeno, provocando trastornos metabólicos e inhibición del crecimiento micelial.
- Los extractos de *Estrobilurus tenacellus* + *Agave americana* en relación 1:1 contienen saponinas, taninos, terpenos, fenoles, flavonoides y quinonas. Estos compuestos poseen propiedades antifúngicas, antisépticas, antibacterianas, insecticidas y antimicrobianas.

6.2. BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez David, Hurtado Mauricio, Salazar Elizabeth, Arango Oscar, A. M. (2013). Evaluación del bioinsumo de fique (*Furcraea gigantea*) en el control del tizón tardío de la papa. *Biotecnología En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial*, 11(2), 29–36. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n2/v11n2a04.pdf>.
- Anke, T., Oberwinkler, F., Spezielle, L., Universitat, B. Der, Steglich, W., Schramm, G., & Universitat, B. Der. (1977). THE STROBILURINS FROM ANTIBIOTICS TENACELLUS THE BASIDIOMYCETE (PERS. ex FR.) SING
- Bedoya, M., Benavides, H., Pantoja, D., Santacruz, L. (2014). Antifungal activity of essential oil of Lippie *origanoides* H.B.K on the growth of *Phytophthora infestans*. 64 (2):116-24.
- Bolívar K, Sanabria ME, Rodríguez D, Cumana L, Crescente O, Ulacio D. (2009) Potencial efecto fungicida de extractos vegetales en el desarrollo in vitro del hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, 9(1):175–81.
- Celis, A., Mendoza, C., Pachón, M., Cardona, J., Delgado, W. y Cuca, L. (2008). Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. *Agronomía Colombiana*, 26(1), (s.f.), 97-106.
- CORPOICA (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria). (2002). IV Seminario Nacional de Frutales de Clima Frío. Medellín, Co.
- Escobar, E. (2009). Estudio de la biología reproductiva y análisis molecular de la reproducción sexual y asexual de *Agave tequilana* Weber var. azul. Retrieved from http://www.ira.cinvestav.mx:86/tesis/escobar_2009.pdf
- FAO (Food and Agriculture Organization) (2008). La papa, tesoro enterrado. Consultado el 20 de junio del 2017. Recuperado de <http://www.fao.org/potato-2008/es/lapapa/>
- FUNGIPEDIA. (2017). TAXONOMIA DEL *S. tenacellus*. recuperado de: <http://www.fungipedia.org/hongos.html>

- Gende, LB, Principal J, Maggi MD, Palacios SM, Fritz R, Eguaras MJ. Extracto de Melia azedarach y aceites esenciales de C. zeylanicum, M. piperita y L. officinalis como control de Paenibacillus larvae. Buenos Aires, Ar. 2008;26(2):151–6.
- Huaman, Z. (1986). Botánica Sistemática y Morfología de la Papa. Retrieved from http://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PNABD595.pdf
- Huarte, M. A., & Capezio, S. B. (2013). Cultivo de papa. Retrieved from http://agroserviciosdelsudeste.com/uploaded/nota_tecnica_6/documento97c438intahuartecapeziopapa2013.pdf
- Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología. (2014). Registro anual de observaciones Meteorológicas. Estación Agrometeorológica Querochaca. Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Ecuador- Cevallos.
- INEC (INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICAS Y CENSOS, Ec.). (2015). Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC) 2015- Quito, Ec. Recuperado de http://www.ecuadorencifras.gob.ec//documentos/webinec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac_20142015/2015/Presentacion%2de%20resultados%20ESPAC_2015.pdf
- Jaramillo, M., Álvarez, J., Marín, M. (2012). Características de los virus asociados a la virosis del tomate de árbol (Solanum betaceum) en Colombia. Revista Lasallista de Investigación, 9 (1), (s.f.), 115-127.
- Medina., Y. (2000). Phytophthora: Características, diagnóstico y daños que provoca en algunos cultivos tropicales. Medidas de control.
- Moreno, R. L. (2012). Desarrollo de Métodos Inmunoquímicos para el Análisis de los Fungicidas Estrobilurínicos Kresoxim-methyl y Trifloxystrobin.
- Olivares, B., Chirinos, J. y Guevara, E. (2013). Efectividad Biológica de Extractos Vegetales en el Control In Vitro de la Bacteria Fitopatógena Xanthomona. Multiciencias, 13(2), Abril-Junio, 115-121.
- Pardo, J. (2002). Patentabilidad de los extractos vegetales. Universidad de Barcelona, España. Recuperado de

[http://www.ub.edu/centrepatents/pdf/doc_dilluns_CP/pardo_patentesextrac
tosplantas.pdf](http://www.ub.edu/centrepatents/pdf/doc_dilluns_CP/pardo_patentesextrac
tosplantas.pdf)

Ríos, M. (2007). DISTRIBUCIÓN Y VARIABILIDAD DE *Ralstonia solanacearum* E.F. Smith, AGENTE CAUSAL DE MARCHITEZ BACTERIANA EN EL CULTIVO DE PAPA (*Solanum tuberosum* L), EN TRES DEPARTAMENTOS DEL NORTE DE NICARAGUA (Estelí, Matagalpa y Jinotega). *DISTRIBUCIÓN Y VARIABILIDAD DE Ralstonia Solanacearum E.F. Smith, AGENTE CAUSAL DE MARCHITEZ BACTERIANA EN EL CULTIVO DE PAPA (Solanum Tuberosum L), EN TRES DEPARTAMENTOS DEL NORTE DE NICARAGUA (Estelí, Matagalpa Y Jinotega)*. Retrieved from <http://repositorio.una.edu.ni/1366/1/tnh20r586.pdf>

PEREIRA, A. A. L. (2007). *PRUEBAS DE EFICICIENCIA in vitro Y BAJO INVERNADERO DE CEPAS DE Trichoderma spp. PARA CONTROL DE Phytophthora infestans EN EL CULTIVO DE PAPA Solanum tuberosum PARA ESTABLECER UN BANCO DE MICROORGANISMOS*. ESPE. Retrieved from <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2564/1/T-ESPE-IASA I-003290.pdf>

Pérez, W., & Forbes, G. (2011). Guía de identificación de plagas que afectan a la papa en la zona andina. *Guía de Identificación de Plagas Que Afectan a La Papa En La Zona Andina*. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/019/as407s/as407s.pdf>

Rodríguez, L. E. (2009). Teorías sobre la clasificación taxonómica de las papas cultivadas (*Solanum* L. sect. *Petota* Dumort.). *Teorías Sobre La Clasificación Taxonómica de Las Papas Cultivadas (Solanum L. Sect. Petota Dumort.)*. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/agc/v27n3/v27n3a03.pdf>

Sherwood, M. P. y S. (2002). EL CULTIVO DE LA PAPA EN ECUADOR. Retrieved from <http://nkxms1019hx1xmtstxk3k9sko.wpengine.netdna-cdn.com/wp-content/uploads/Documentacion PDF/Pumisacho y Sherwood Cultivo de Papa en Ecuador.pdf>

Solarte, R. D., Osorio, O., Hurtado, A. M., & Mejia, D. F. (2012). Evaluación del Bioinsumo de Fique Pulverizado (*Furcraea* spp) para el Control in vitro de

Phytophthora infestans en papa (Solanum tuberosum L) Evaluation of Antifungal activity of Spray-dried Figue (Furcraea spp) for in vitro control of Phytophthora infestans in potatoes (Solanum tuberosum L), 23(3), 77–86. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642012000300010>

Trujillo, E., Santiago, G., & González, P. (2009). Plagas y enfermedades de la papa. Identificación y control. Retrieved from <https://martinurbinac.files.wordpress.com/2011/08/plagas-de-la-papa.pdf>

Valverde, R; Páez, O; Gómez, L; Brenes, A; (2005). Diversidad genética de aislamientos de Phytophthora infestans en plantaciones de papa en Costa Rica con el uso de RAPDs. *Agronomía Costarricense*, 29() 41-55. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43629105>

Velázquez del Valle, M., Bautista, S., Hernández, A. (2007). Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(), 119-123. INEC (INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICAS Y CENSOS, Ec.). (2013). Censo Nacional Agropecuario-Ecuador 2010. Quito, Ec. Recuperado de http://inec.gob.ec/estadisticas/?option=com_content&view=article&id=111&Itemid=126

6.3. ANEXOS

Anexo 1. Molino casero de corona.



Anexo 2. Recolección de *A. americana*



Anexo 3. Recolección de *E. tenacellus*.



Anexo 3. Interacción de los dos extractos en relación 1: 1



Anexo 41. Aplicación de los extractos



Anexo 5. Toma de datos a nivel de campo



CAPÍTULO VII

PROPUESTA

7.1. TÍTULO

Uso de la combinación de los extractos de *A. americana* + el hongo *E. tenacellus* en relación 1:1 para la prevención de *Phytophthora infestans*.

7.2. DATOS INFORMATIVOS

El presente estudio de investigación se llevará a cabo en la Granja Experimental Docente "Querochaca" propiedad de la Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias, ubicada en el cantón Cevallos, provincia de Tungurahua. Sus coordenadas geográficas son 01° 21´ de latitud Sur y 78° 36´ de longitud Oeste, a la altitud de 2865 msnm.

7.3. ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA

La interacción de los extractos de *Agave americana* y *Estrobilurus tenacellus* en relación 1:1 contiene aceite esencial, alcaloides, cetonas, fenoles, flavonoides, quinonas, saponinas, taninos y terpenos, los mismos que inhiben el desarrollo micelial del patógeno evitando así su proliferación en el cultivo huésped. En la investigación realizada se obtuvo los porcentajes de incidencia (11,15 %), severidad (11,90 %), y un área foliar de (44,17 %), con la aplicación de esta interacción entre los extractos.

7.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

El presente trabajo de investigación se realizará debido a que en la actualidad el manejo de "tizón tardío" en el cultivo de papa está ligado al uso indiscriminado de pesticidas, deteriorando la calidad del tubérculo, afectando al medio ambiente y a la salud de los productores y consumidores. Dentro del uso progresivo de técnicas y alternativas de manejo de plagas y enfermedades se encuentran los extractos de origen natural, los

cuales reducen el uso de pesticidas y de esta manera elevar la calidad de los tubérculos, cuidar el medio ambiente y la salud de productores y consumidores.

7.5. OBJETIVO

Aplicar la interacción de los extractos de *A. americana* y *E. tenacellus* en relación 1:1 para prevenir la aparición de *Phytophthora infestans* en el cultivo de *S. tuberosum*.

7.6. ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD

Las principales razones por las cuales el uso de extractos de origen natural en la agricultura constituye una nueva alternativa para el manejo de plagas y enfermedades de los cultivos son: simplicidad en obtención, bajo costo de adquisición, bajo/nulo riesgo para la salud de productores y consumidores, son productos biodegradables y se incorporan a la naturaleza con facilidad.

7.7. FUNDAMENTACIÓN

El desconocimiento y la deficiente investigación acerca de métodos alternativos de manejo de plagas y enfermedades, ha limitado el aprovechamiento de la propiedad antifúngica que poseen las plantas para su autodefensa en contra de patógenos infecciosos. Hoy en día, la agricultura se ha orientado a procesos de producción encaminados a reducir el uso de pesticidas, mediante la aplicación de nuevas alternativas para el control y prevención de plagas y enfermedades, entre las cuales se encuentran los extractos de origen natural, los mismo que se vienen utilizando para el manejo de insectos y hongos fitopatógenos.

El uso de extractos naturales permite reducir el uso de pesticidas y de esta manera mejorar la rentabilidad del cultivo, subyugar los residuos tóxicos de los pesticidas en los cultivos, preservar el medio ambiente y el bienestar de los productores y consumidores.

7.8. METODOLOGÍA, MODELO OPERATIVO

Recolección de especies vegetales

Se recolectaron 5 kg de *A. americana* (hojas), y 1 lb de *E. tenacellus* debe ser recolectada cuando estas especies estén maduras.

Obtención por molido

1. Limpiar las hojas de penco y cortarlas en tiras.
2. Introducir las en el molino de rodillos casero.
3. Triturar bien las hojas de penco y luego pasar por una tela de lienzo.
4. Colocar el extracto en un recipiente desinfectado y dejarlo reposar a completa obscuridad en condiciones ambientales.

Obtención por licuado

1. Pesar una libra de hongos previamente recolectados.
2. Colocar en una licuadora casera y añadir un litro de agua purificada.
3. Pasar la solución por un cedazo para eliminar las partículas grandes.
4. Colocar nuestro extracto en un recipiente desinfectado y dejarlo reposar por 6 días a completa obscuridad a condiciones ambientales

Aplicación

La aplicación se debe realizar cada 8 días por pulverización en forma directa a todo el cultivo de papa, con una dosis de 15000 ml por 200 lt de agua

7.9. REVISIÓN DE LA EVALUACIÓN

Luego de cinco meses, se hará una evaluación del alcance de la propuesta en la zona de influencia donde se desarrolló la investigación.