

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



TESIS

CONTROL DE LA MANCHA CHOCOLATE (*Botrytis fabae*) CON SAPONINA DE QUINUA EN EL CULTIVO DE HABA (*Vicia faba*), K'AYRA, CUSCO

PRESENTADO POR:

Bach. JAQUELINE VICKI POCCO GUTIERREZ

PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGRÓNOMO

ASESOR:

Ph.D. WILFREDO CATALAN BAZAN

COASESOR:

M.Sc. HANS CARREÑO FERNANDEZ

CUSCO – PERÚ

2024

INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, Asesor del trabajo de investigación/tesis titulada: CONTROL DE LA MANCHA CHOCOLATE (Botrytis fabae) CON SAPONINA DE QUINUA EN EL CULTIVO DE HABA (Vicia faba), K'AYRA, CUSCO

presentado por: JARQUINE VICKI POCCO GUTIERREZ con DNI Nro.: 73185094 presentado por: con DNI Nro.: para optar el título profesional/grado académico de INGENIERO AGRÓNOMO

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 10 %.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto la primera página del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 31 de diciembre de 2024

Wilfredo Catalán Bazán
Firma
Post firma Wilfredo Catalán Bazán
Nro. de DNI 23849496
ORCID del Asesor 0000-0001-6370-6754

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: oid::27259:419037672

JAQUELINE VICKI POCCO GUTIERREZ

TESIS CONTROL DE LA MANCHA CHOCOLATE EN HABA .pdf

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:419037672

157 Páginas

Fecha de entrega

30 dic 2024, 7:24 a.m. GMT-5

25,009 Palabras

Fecha de descarga

30 dic 2024, 7:36 a.m. GMT-5

129,012 Caracteres

Nombre de archivo

TESIS CONTROL DE LA MANCHA CHOCOLATE EN HABA .pdf

Tamaño de archivo

9.6 MB

10% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...




Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto citado
- ▶ Texto mencionado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 16 palabras)

Exclusiones


- ▶ N.º de fuente excluida

Fuentes principales

- 10%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 6%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alerta de integridad para revisión

-  **Texto oculto**
2 caracteres sospechosos en N.º de página
El texto es alterado para mezclarse con el fondo blanco del documento.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

DEDICATORIA

A mi madre Erika Gutierrez Hanco, por brindarme tu amor incondicional e inspirarme a superar los obstáculos de la vida desde pequeña, por ser la persona que me apoyó desde siempre a alcanzar mis metas, por ser mi mejor amiga y confidente.

A mi padre Ysaac Pocco Fernandez, por creer en mí, por brindarme tu paciencia, tu amor, tus sabios consejos e inculcarme el valor de la humildad, perseverancia y justicia.

A mi querido hermano Gonzalo, que es la fuente de mi alegría y esperanza para seguir adelante, con quien espero compartir muchos momentos de mi vida y servirle de guía.

A mis abuelos Valeriano y Nilda Q.E.P.D que son quienes siempre creyeron en mí desde pequeña, los cuales me llenan de bendiciones y oportunidades desde el cielo.

Con mucho amor a mi abuela Malena, que a pesar de la distancia está presente conmigo.

A Oscar Olayunca Díaz, quien es un segundo padre para mí, brindándome su cariño y apoyo a pesar de la distancia.

A David Marlom Pacheco Huamán, quien estuvo conmigo desde el inicio, apoyándome incondicionalmente, brindándome su paciencia, y aliento en cada etapa de este trabajo de investigación.

A mi perseverancia y fortaleza interna, que no me dejó desistir a pesar de las adversidades.

AGRADECIMIENTOS

A mi casa de estudios UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO, por formar y desarrollarme profesionalmente, a la FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS y a la FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, especialmente a les Escuela profesional de Agronomía y Biología.

Al laboratorio Biotecnológico de la Facultad de Ciencias Biológicas, por facilitarme el uso de laboratorio brindándome múltiples insumos para la realización del presente trabajo de investigación.

A mí asesor el Ph.D. Wilfredo Catalán Bazán, quien me asesoró incondicionalmente durante la realización del presente proyecto de investigación, facilitándome el campo experimental y sobre todo por brindarme su exigencia y voluntad de trabajo.

A mi segundo asesor M.Sc. Blgo. Hans Carreño Fernández, quien creyó en mí desde un principio y me apoyó incondicionalmente a pesar de las dificultades que se presentaron brindándome su exigencia, perseverancia y conocimiento.

CONTENIDO

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
RESUMEN	vii
INTRODUCCION	1
I. IDENTIFICACION DEL PROBLEMA	2
II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACION	4
2.1 Objetivos.....	4
2.1.1 Objetivo General.....	4
2.1.2 Objetivos Específicos	4
2.2 Justificación.....	4
III. HIPOTESIS.....	6
3.1 Hipótesis General	6
3.2 Hipótesis Específicas.....	6
IV. MARCO TEORICO	7
4.1 Antecedentes.....	7
4.1.1 Antecedentes Internacionales	7
4.1.2 Antecedente Nacional.....	12
4.2 Bases Teóricas	13
4.2.1 Saponinas.....	13

4.2.2 Saponina comercial.....	21
4.2.3 Quinoa	22
4.2.4 Enfermedad mancha chocolate en cultivo de haba.....	25
4.2.5 Fungicida Arado	30
4.2.6 Cultivo de haba.....	31
4.3 Definición de términos	41
V. DISEÑO DE LA INVESTIGACION	46
5.1 Aspectos generales de la investigación	46
5.1.1 Tipo de la investigación.....	46
5.1.2 Temporalidad de la investigación.....	46
5.1.3 Ubicación espacial de la investigación.....	46
5.2 Materiales y metodología	48
5.2.1 Materiales	48
5.2.2 Metodología.....	50
b) <i>Evaluación de variables agronómicas</i>	68
VI. RESULTADOS Y DISCUSION	90
6.1 Parámetros evaluados en campo.....	90
6.1.1 Evaluación de enfermedad.....	90
6.1.2 Variables agronómicas	96
6.2 Variables evaluadas en laboratorio.....	108

6.2.1 Porcentaje de Inhibición Micelial.....	108
6.2.2 Porcentaje de crecimiento de hongo.....	111
6.3 Discusión.....	115
6.3.1 Discusión de resultados de campo.....	115
6.3.2 Discusión de resultados de laboratorio.....	115
VII. CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS.....	117
7.1 Conclusiones.....	117
7.2 Sugerencias.....	118
VIII. BIBLIOGRAFIA.....	119
ANEXOS.....	129

RESUMEN

El trabajo de investigación intitulado “CONTROL DE LA MANCHA CHOCOLATE (*Botrytis fabae*) CON SAPONINA DE QUINUA EN EL CULTIVO DE HABA (*Vicia faba*), K'AYRA, CUSCO” se orienta a solucionar el problema del uso excesivo de fungicidas para controlar al hongo *Botrytis fabae* en cultivo de haba (*Vicia faba*), para lo cual se tuvo por objetivo determinar la concentración de saponina de quinua y fungicida para el control de mancha chocolate (*Botrytis fabae*) y su influencia en el rendimiento de grano en cultivo de haba a nivel de campo. Por otro lado, también se tuvo como objetivo determinar la concentración de saponina de quinua y fungicida que inhibe el crecimiento del hongo *Botrytis fabae* en condiciones de laboratorio.

El diseño estadístico aplicado en campo fue (DBCA) con 5 tratamientos y 3 repeticiones, conformado por los tratamientos T1 (Saponina Comercial), T2 (Fungicida Arado), T3 (Saponina a la concentración 1:1), T4 (Saponina a la concentración 1:5), T5 o Tratamiento Testigo (Agua).

El diseño estadístico aplicado en Laboratorio fue (DCA) con 5 tratamientos y 4 repeticiones, conformado por los tratamientos T1 (Saponina Comercial + PDA), T2 (Fungicida Arado+PDA), T3 (Saponina a la concentración 1:1+PDA), T4 (Saponina a la concentración 1:5+PDA), T5 o tratamiento testigo (PDA).

Los resultados de las evaluaciones en campo demuestran que el T2 (fungicida Arado) resultó ser el tratamiento más efectivo para controlar el grado de severidad de la enfermedad en campo, seguido por el T3 (Saponina a la concentración 1:1) que presentó la mayor capacidad para controlar los grados de severidad promedio. El T1 (Saponina comercial) y el T4 (Saponina a la concentración 1:5) mostraron un control intermedio del grado de severidad.

Se determinó también que el rendimiento en cultivo de haba no mostró diferencia significativa estadísticamente. Sin embargo, se evidencia que en parcelas tratadas con el T2 (Fungicida Arado) tuvieron un mayor rendimiento.

Los resultados de las evaluaciones en laboratorio demuestran que el tratamiento T1 (Saponina Comercial) obtuvo el mayor porcentaje de inhibición del crecimiento micelial del hongo patógeno, siendo 71.78%, seguido por el tratamiento T2 (Fungicida Arado) con un 65.07% y T3 (Saponina en concentración 1:1) con un 54.62%. El tratamiento T4 (Saponina en concentración 1:5) tuvo un 39.39% de inhibición, inferior a los tratamientos mencionados en condiciones de laboratorio.

Palabras clave: Patógeno, saponina, inhibición de crecimiento micelial, haba.

INTRODUCCION

El área de cultivo de haba sembrada a nivel nacional es aproximadamente 30 000 ha; de las cuales el 90% de la producción se encuentra en zonas montañosas de 2500 a 3800 m.s.n.m. (SENASA P).

En la actualidad la mancha chocolate causada por el hongo *Botrytis fabae* es la principal enfermedad en el cultivo de haba, ya que provoca daños de importancia en este cultivo y en consecuencia provoca pérdidas económicas para el agricultor, el control para esta enfermedad es bastante diverso, pero siempre se prefiere el control químico por ser el más común. Sin embargo, este tipo de control puede ser perjudicial para la salud, el medio ambiente y la economía.

La humedad es el factor principal para la aparición de *Botrytis*, siendo esencial para su desarrollo. Cuanto mayor sea la humedad del ambiente, mayores serán las posibilidades de que las plantas se infecten con hongos. En cuanto al cultivo de haba, se desarrolla durante la temporada de lluvias, lo que proporciona las mejores condiciones para el crecimiento y desarrollo del hongo.

Por otro lado, cabe destacar que existen algunos fungicidas de origen orgánico capaces de controlar determinadas enfermedades, como las saponinas, cuyas propiedades químicas pueden utilizarse para combatir afecciones fúngicas.

Teniendo en cuenta lo anterior, se propone realizar este proyecto de investigación para aplicar dos tipos de saponinas de quinua (saponina comercial y saponina de quinua extraída del lavado manual) en condiciones de campo y laboratorio, con el objetivo de evaluar el control de hongo *Botrytis fabae* en campo e inhibir el crecimiento del mismo en condiciones de laboratorio.

I. IDENTIFICACION DEL PROBLEMA

La región Cusco posee aproximadamente de 7 347 hectáreas (ha.) de cultivo de habas. producción promedio de 6 - 8 t. ha (SENASA, 2017).

En el país, el cultivo de haba es muy importante por el alto valor nutritivo y utilización en la preparación de diferentes potajes para la alimentación popular, especialmente en los sectores andinas. La enfermedad más importante es la mancha chocolate (*Botrytis fabae*) en el cultivo de haba, ya que afecta a tallos, hojas, vainas y grano, y reduce el rendimiento del cultivo, promoviendo la escasez del producto en la despensa y economía familiar.

En los últimos años la enfermedad es más agresiva en el cultivo, por las variaciones de la temperatura, precipitaciones y sequías que pueden estar favoreciendo el desarrollo de esta enfermedad, por tanto, el agricultor viene usando, de manera frecuente y agresiva los fungicidas como control químico.

El presente trabajo de investigación se orientó a encontrar otras alternativas diferentes al control químico, en ese sentido se evaluó el efecto de las saponinas de la quinua tanto extraídas manualmente por lavado como también saponina comercial en el control de esta enfermedad, para ello nos planteamos las siguientes preguntas:

PROBLEMA GENERAL

- ¿Cuáles serán los efectos de diferentes concentraciones de saponina de quinua y una concentración de fungicida para el control e inhibición de la enfermedad mancha chocolate (*Botrytis fabae*) en el rendimiento de grano en el cultivo de haba?

PROBLEMAS ESPECIFICOS

- ¿Cómo será el efecto de diferentes concentraciones de saponina de quinua y una concentración de fungicida para determinar la mejor alternativa de control de la mancha chocolate (*Botrytis fabae*) en el cultivo de haba a nivel de campo?
- ¿Cómo será el efecto de diferentes concentraciones de saponina de quinua y una concentración de fungicida para inhibir el desarrollo del hongo *Botrytis fabae* en condiciones de laboratorio?

II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACION

2.1 Objetivos

2.1.1 Objetivo General

- Evaluar las diferentes concentraciones de saponina de quinua y una concentración de fungicida para el control e inhibición de crecimiento micelial de mancha chocolate (*Botrytis fabae*) y el rendimiento de grano en el cultivo de haba (*Vicia faba*).

2.1.2 Objetivos Específicos

- Determinar la concentración de saponina de quinua y fungicida para el control de mancha chocolate (*Botrytis fabae*) y su influencia en el rendimiento de grano en cultivo de haba a nivel de campo.
- Determinar la concentración de saponina de la quinua y fungicida que inhibe el crecimiento del hongo *Botrytis fabae* en condiciones de laboratorio.

2.2 Justificación

Ambiental

Varios estudios demuestran que, las saponinas podrían constituirse en una alternativa más en el uso de los fungicidas químicos. Si bien es cierto, que el control químico puede controlar la enfermedad de manera eficiente, no debemos ignorar el daño que los pesticidas químicos pueden causar al medio ambiente, los cultivos, el suelo y a los consumidores que consumen estos productos. Por consiguiente, se busca reducir los daños a la salud del consumidor causados por los pesticidas y conjuntamente disminuir los daños ambientales que los pesticidas químicos causan a largo plazo, ya que la saponina puede ser degradada con facilidad y no dejar vestigios, tanto ambientales como lo hacen los fungicidas químicos.

Social

Investigaciones anteriores respaldan que la saponina puede actuar de manera eficiente como inhibidor de múltiples fitopatógenos, es por esta razón que la saponina podría ser incluida en capacitaciones futuras para productores y agricultores, siendo presentada como una nueva alternativa para el control de diversos fitopatógenos, entre ellos *Botrytis fabae*.

Económica

Con el presente trabajo de investigación se pretende brindar una nueva alternativa de control para la mancha chocolate en el cultivo de haba y a su vez generar menores egresos para el productor con lo que respecta a fungicidas y plaguicidas ya que el agricultor dispone de la saponina de la quinua, incrementando la economía de este al mejorar el rendimiento del cultivo de haba.

De investigación

Considerando los problemas actuales de control de enfermedades y las alternativas disponibles, es que se plantea, el siguiente trabajo de investigación con el uso de extracto de saponina de quinua en diferentes concentraciones, para el control de la enfermedad mancha chocolate (*Botrytis fabae*).

Los resultados de laboratorio demostraron que la saponina puede inhibir de una manera correcta el crecimiento y desarrollo del hongo *Botrytis fabae*, lo cual es beneficioso a nivel de laboratorio porque a base de este trabajo de investigación se puede brindar nuevas opciones para la realización de futuros trabajos de investigación que finalmente puedan consolidar una nueva técnica de control a la disponibilidad de los usuarios que son los agricultores.

III. HIPOTESIS

3.1 Hipótesis General

- Es posible encontrar concentraciones de saponina de quinua y una concentración de fungicida que pueden controlar e inhibir la enfermedad mancha chocolate (*Botrytis fabae*) en el cultivo de haba (*Vicia faba*).

3.2 Hipótesis Específicas

- Al menos dos concentraciones de saponina de la quinua y una concentración de fungicida controlan a la enfermedad mancha chocolate (*Botrytis fabae*) en el cultivo de haba (*Vicia faba*) en campo.
- Al menos dos concentraciones de saponina de quinua y una concentración de fungicida inhiben el desarrollo del hongo *Botrytis fabae* en condiciones de laboratorio.

IV. MARCO TEORICO

4.1 Antecedentes

En el transcurso de los últimos años se ha prestado atención al papel de los extractos de plantas como alternativa para el control de diversas plagas y enfermedades de los cultivos. La saponina ha sido estudiada en el ámbito medicinal, por varias universidades y laboratorios demostrando eficiencia en tratamientos de distintas enfermedades. Por otro lado, la saponina en nuestro país no ha sido ampliamente estudiada en casi ningún ámbito de salud o agricultura.

La quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*) es un grano de origen andino con elevado valor nutricional. La quinua es conocida por su alto contenido proteico y alto valor biológico. El contenido de proteínas y el valor nutricional de la quinua la distinguen de los cereales comunes como el arroz, el trigo y el maíz.

Como todos sabemos, las saponinas se encuentran en las cáscaras de quinua y los beneficios de esta sustancia han demostrado ser efectivas en la salud, la agricultura, la cosmética y más. En los últimos años, muchos países han realizado numerosos estudios sobre la eficacia de las saponinas. No obstante, todavía es casi desconocida y rara vez se utiliza.

4.1.1 Antecedentes Internacionales

Como primer antecedente internacional se menciona la tesis de maestría de Flores (2017), titulada "EFECTO DE TRES DOSIS DE EXTRACTO DE SAPONINA DE QUINUA (*Chenopodium Quinoa Willd.*) EN SU FORMA SOBRENADANTE PARA EL CONTROL DEL Hongo *Botrytis Sp.* BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO Y EN CULTIVO DE HABA" perteneciente a la Universidad Mayor de San Andrés de Bolivia, demostró la eficiencia de la Saponina, ya que los resultados reportados por Flores (2017) también coinciden con los míos, al

encontrar que la dosis 1/100 del extracto de saponina sobrenadante fue la más efectiva tanto en las pruebas *in vitro*, como para mejorar variables como incidencia, altura de planta, área foliar y rendimiento en el cultivo de haba en campo.

Esto refuerza y brinda mayor respaldo a las conclusiones de mi propio estudio, al mostrar efectos consistentes del uso de saponinas de quinua contra *Botrytis sp.* en cultivo de haba.

En resumen, la tesis de Flores (2017) representa un antecedente directo, robusto y relevante, que mediante una metodología y enfoque muy similar al mío, obtiene conclusiones plenamente consistentes sobre la efectividad de extractos de saponinas de quinua para el control de *Botrytis sp.* en cultivos. Esto le da un gran respaldo a mis hallazgos y subraya el potencial práctico de estos compuestos naturales como una alternativa prometedora a los fungicidas convencionales.

Como segundo antecedente se menciona el trabajo de Stuardo & San Martín (2007), titulado “PROPIEDADES ANTIFÚNGICAS DE LAS SAPONINAS DE QUINUA (*Chenopodium Quinoa Willd*) PROCESADAS CON ÁLCALIS CONTRA *Botrytis cinerea*” perteneciente a la Pontificia Universidad Católica de Chile, dicho trabajo aborda directamente la evaluación de las cualidades antifúngicas de la saponina extraída de la quinua, al igual que mi investigación y la de Flores (2017) pero enfocándose específicamente en el hongo *Botrytis Cinerea*.

El hecho de estudiar *Botrytis cinerea* es particularmente relevante, ya que este hongo está estrechamente relacionado con *Botrytis fabae* que fue el patógeno evaluado en nuestros estudios de haba y mi cultivo.

Una novedad importante de este trabajo es haber sometido las saponinas de quinua a tratamientos con álcalis, lo cual podría modificar su estructura y actividad biológica.

Al ser un estudio principalmente *in vitro*, es probable que indaguen en aspectos como la caracterización química detallada de los compuestos y sus posibles modos de acción contra el hongo, elementos que nuestras investigaciones no abordan a fondo.

Una posible limitación es que, al enfocarse únicamente en pruebas *in vitro*, no se evalúa el desempeño real de estos compuestos modificados en condiciones de campo o cultivos.

El estudio de Stuardo & San Martín (2007) representa un aporte muy valioso al combinar el análisis de las propiedades antifúngicas de las saponinas de quinua, al igual que mis investigaciones, pero incorporando una dimensión adicional al evaluar los efectos de modificaciones estructurales mediante tratamientos con álcalis. Esta aproximación podría brindar información relevante sobre la relación estructura-actividad de estos compuestos y guiar hacia la identificación de formas más potentes o con mecanismos de acción más específicos. La combinación de sus hallazgos a nivel molecular con nuestras evaluaciones de campo conformará una visión muy completa del potencial del uso de saponinas como agentes de control de enfermedades vegetales.

Se menciona el trabajo de investigación del autor Sánchez (2019) perteneciente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en Ecuador, el cual lleva por nombre el título de “EFECTO DE TRES RESIDUOS INDUSTRIALES DE QUINUA SOBRE *Alternaria sp.* y *Botrytis fabae* EN HABA(*Vicia faba*)”, se puede afirmar que este trabajo es sumamente relevante, ya que aborda directamente el uso de residuos/subproductos de la industrialización de la quinua para evaluar su potencial antifúngico contra dos patógenos claves como *Botrytis fabae*

y *Alternaria sp.* en habas. Y en la medida que mi investigación también se enfocó en el control de *Botrytis fabae* en haba usando extractos de quinua, este antecedente representa un caso muy análogo y comparable.

La novedad de utilizar residuos industriales de quinua en lugar de extractos puros es muy interesante desde un punto de vista de aprovechamiento de subproductos y economía circular.

Evaluar el efecto sobre estos dos géneros fúngicos patógenos aporta una visión más completa del espectro antifúngico de los compuestos presentes en estos residuos.

Los resultados podrían guiar hacia formulaciones o presentaciones más económicas y ambientalmente amigables a partir de desechos de la industria de la quinua.

Una limitación potencial es que, al tratarse de residuos, la composición y concentración de los compuestos bioactivos podría ser variable y menos estandarizada que con extractos puros.

En conclusión, esta investigación sobre “EL USO DE RESIDUOS DE QUINUA CONTRA *Alternaria sp.* y *Botrytis fabae* EN CULTIVO DE HABA (*Vicia faba*)” representa un antecedente directo y muy valioso, al abordar un sistema vegetal-patógeno casi idéntico al de mi trabajo, pero desde un enfoque novedoso del aprovechamiento de desechos agroindustriales. Sus hallazgos pueden conducir a formulaciones o productos de control de enfermedades más sostenibles, económicos y amigables con el ambiente, además de aportar datos sobre la actividad antifúngica específica de estos residuos y sus posibles compuestos responsables. Sin duda, es un complemento relevante a los otros antecedentes analizados previamente.

Se hace mención del estudio de Apaza (2016) titulado "EFECTO DE SAPONINAS DE *Chenopodium Quinoa Willd* CONTRA EL FITOPATÓGENO *Cercospora Beticola Sacc.*" de la Universidad Mayor de San Andrés en Bolivia, que al igual que mi investigación y los otros

antecedentes, aborda el uso de saponinas extraídas de la quinua (*Chenopodium quinoa*) como compuestos con potencial actividad antimicrobiana contra patógenos vegetales.

Sin embargo, a diferencia de los otros estudios que evalúan el efecto sobre *Botrytis spp.*, este trabajo se enfoca específicamente en el hongo *Cercospora beticola*, causante de la cercosporiosis en el cultivo de remolacha.

Esto amplía el espectro de acción evaluado para las saponinas de quinua, contemplando un patógeno y cultivos diferentes, lo cual es relevante para vislumbrar posibles aplicaciones en diversos sistemas agrícolas.

Al ser un artículo científico, es probable que la metodología y el análisis de resultados estén reportados con un alto nivel de detalle y rigurosidad.

Dependiendo del enfoque, el estudio podría también profundizar en la caracterización química de los compuestos bioactivos presentes en las saponinas y sus posibles mecanismos de acción antifúngica específicos contra *C. Beticola*.

Una fortaleza adicional es evaluar el efecto directamente sobre un cultivo vegetal en campo, ya que las condiciones *in situ* pueden influir en la efectividad de los tratamientos.

En resumen, si bien se enfoca en un patosistema diferente, este artículo científico boliviano complementa muy bien los otros antecedentes al explorar las propiedades antimicrobianas de las saponinas de quinua contra otro hongo fitopatógeno relevante como *C. Beticola*. Sus hallazgos pueden aportar información valiosa sobre dosificación, formulación y eficacia en condiciones de campo. Además, brinda un análisis detallado de la composición química y mecanismos de acción involucrados. La integración de todos estos antecedentes

conformará una base sólida sobre el potencial de las saponinas como alternativa de control de enfermedades vegetales a partir de compuestos naturales.

4.1.2 Antecedente Nacional

Como antecedente nacional hay poca información que existe en las fuentes accesibles, sin embargo se ha encontrado un trabajo de investigación de García (2019) , perteneciente a la Universidad Ricardo Palma, titulado "TRATAMIENTOS COMBINADOS DE SAPONINA DE QUINUA (*Chenopodium quinoa Wild.*), CANELA (*Cinnamomum zeylanicum*) y Clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) SOBRE EL DESARROLLO DE HONGOS FITOPATÓGENOS" el cual aborda el uso de saponinas de quinua, al igual que nuestros estudios, pero evaluando su efecto antifúngico en combinación con otros extractos vegetales naturales como clavo de olor y canela.

Esta aproximación de combinar varios extractos vegetales con potencial bioactivo es novedosa y podría generar efectos sinérgicos o complementarios más potentes contra los hongos fitopatógenos.

A diferencia de nuestros trabajos enfocados en condiciones de campo, este estudio parece centrado únicamente en pruebas *in vitro* sobre el desarrollo fúngico, lo cual, si bien es una limitación, permite obtener datos más controlados sobre los efectos directos de los tratamientos.

Evaluar el efecto de estos extractos combinados sobre una variedad de especies fúngicas fitopatógenas brinda una visión más amplia del potencial espectro de acción antifúngica.

Los resultados obtenidos podrían sustentar o complementar nuestros hallazgos sobre la actividad de las saponinas de quinua, e identificar posibles mezclas sinérgicas prometedoras para probar posteriormente en ensayos de campo.

Una fortaleza adicional es que, al estudiar los efectos sobre el desarrollo fúngico *in vitro*, es posible que este trabajo indague con más detalle en los mecanismos de acción antifúngica subyacentes, un aspecto que nuestros estudios no abordan a fondo.

En conclusión, si bien esta tesis de la Universidad Ricardo Palma tiene un enfoque algo diferente al centrado en pruebas *in vitro* combinando extractos vegetales, representa un complemento muy valioso para las investigaciones. Sus resultados podrían guiar hacia nuevas mezclas o formulaciones con efectos antifúngicos potenciados, además de arrojar luz sobre los posibles modos de acción involucrados. Esta combinación de estudios *in vitro* e *in situ* sobre extractos naturales como las saponinas aporta una visión más completa e integral para su potencial uso como alternativas ecológicas en el control de enfermedades vegetales.

4.2 Bases Teóricas

4.2.1 Saponinas

Las saponinas son compuestos que se encuentran en varias plantas que, al mezclarse con agua producen espuma, por esta razón estas plantas se han utilizado como jabón desde épocas antiguas (del latín *sapo* = jabón) (Hernández, 1997).

La composición de la saponina corresponde a la fórmula general $(C_n H_{2n-8} O_{10})$ (Tapia, 1979).

4.2.1.1 Estructura Molecular Generalizada De La Saponina

Las saponinas son glicósidos que tienen uno o más azúcares en su estructura. En la cual estos azúcares están unidos por enlace glicosídico a un resto denominado aglicón o sapogenina. (Quiroga, 2010)

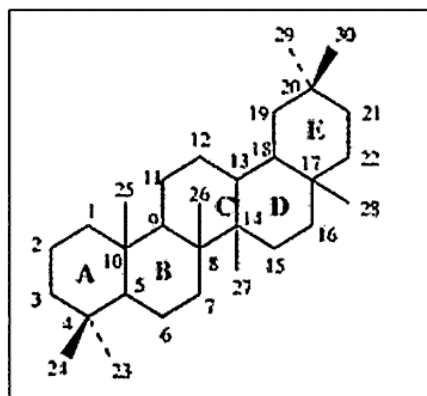
a) Saponinas Triterpénicas.

Pertenecen a un gran grupo de compuestos que contienen configuraciones de cuatro o cinco anillos; o 30 átomos de carbono con algunos átomos de oxígeno unidos (Huaman, 2018). Los triterpenos se ensamblan a partir del isopreno (C5) mediante la vía del mevalonato citosólico, para formar un compuesto de treinta carbonos. Todas las moléculas triterpénicas se derivan del dammarano y se subdividen en Pentacíclicas y Tetracíclicas. (Siller, 2012).

La estructura puede ser observarla en la figura 2.

Figura 2

Estructura de una saponina triterpénica

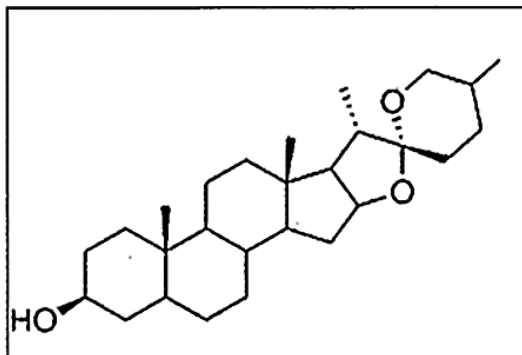


Fuente: (Siller, 2012)

b) Saponinas Esteroidales

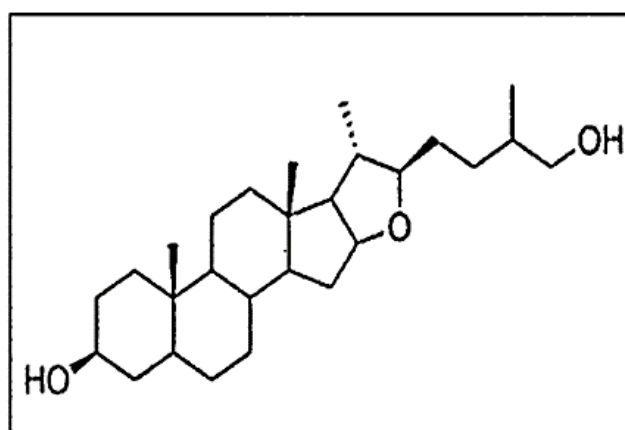
Las saponinas esteroidales se subdividen en dos grupos, los derivados del estirostano y derivados del fursotanol (Siller, 2012) .

Los derivados del estirostano son estructuras hexacíclicas de 27 carbonos. Su estructura deriva del ciclopentanoperhidrofenantreno con dos heterociclos de 5 y 6 miembros y una cadena lateral en la posición 17 (Huaman, 2018).

Figura 3***Estructura de saponina esteroidal - espiroestánica***

Fuente: (Siller, 2012)

Los derivados de furostanol tienen un ciclo menos que el espirostanol, pero también tienen una columna de 27 átomos de carbono (Huaman Viera, 2018). Es decir, son aquellas saponinas en donde F está abierto y se consideran precursores biosintéticos de las saponinas derivadas del espirostanol, esta estructura se muestra en la figura 4. (Siller, 2012)

Figura 4***Estructura de saponina esteroidal - furoestánica***

Fuente: (Siller, 2012)

4.2.1.3 Saponina de Quinua

Son de agliconas triterpénicas. Se han establecido cuatro estructuras principales de agliconas en las semillas de quinua: hederagenina, ácido fitolacagénico, ácido oleanólico, y ácido serjánico.

En cuanto a los principales tipos de hidratos de carbono, son la glucosa, la arabinosa y la galactosa. Además, se han aislado 20 saponinas triterpénicas de diferentes partes de *Chenopodium quinoa* (flores, frutos, cubiertas de semillas y semillas) (Gianna, 2013).

a) Aplicaciones comerciales de la saponina

Las saponinas tienen diversas actividades bioquímicas, como hemolítica, antimicrobiana, fungicida, alelopática, insecticida, y molusquicida, además de efectos como coadyuvante de vacunas. Por lo tanto, las saponinas se utilizan como aditivos en diversas industrias.

"Notablemente, las saponinas también pueden activar el sistema inmunológico de los mamíferos, lo que ha generado un importante interés en su potencial como adyuvantes de vacunas. Su capacidad única para estimular tanto la respuesta inmune Th1 y la producción de linfocitos T citotóxicos (LTCs) frente a antígenos exógenos las hace ideales para su uso en vacunas de subunidades y vacunas dirigidas contra patógenos intracelulares, además de para vacunas terapéuticas contra el cáncer"

Se piensa que las saponinas pueden formar complejos con los esteroides de la membrana de los glóbulos rojos, provocando un incremento de su permeabilidad y la consiguiente pérdida de hemoglobina. "Estudios recientes de su actividad biológica *in vitro* e *in vivo* asocian las saponinas con varios beneficios para la salud" (Bazile, 2013).

Además, las saponinas se utilizan como molusquicida orgánicos naturales sin ningún peligro potencial para los seres humanos, los animales y el medio ambiente. Se usa en cultivos de arroz para matar babosas, especialmente el caracol manzana. (Del Barco, 2016)

Pero su propiedad más importante es como surfactante (agente espumante), por lo que se utiliza en la elaboración de champús, ayuda a eliminar la caspa, se utiliza como detergente sin estropear el color y el brillo de la ropa, y mantiene el tamaño de la ropa (Huaman, 2018).

Por lo tanto, las saponinas se utilizan principalmente en las industrias farmacéutica y cosmética.

b) Beneficios de la saponina

Portugal (2013) menciona que:

- Descompone la grasa y acelera la absorción y digestión de los nutrientes.
- Efecto antiinflamatorio.
- Efecto antioxidante.
- Efectos anticancerígenos.
- Ayuda en función eréctil.
- Renueva la actividad enzimática en las células.
- Aumenta la energía, refresca y ayuda a recuperarse del cansancio.
- Disminuye el estado de letargo y la falta de apetito.
- Mejora la proteína de síntesis del suero.
- Mejora significativamente la flexibilidad y disminuye la presión arterial.
- Estimula la actividad de las enzimas implicadas en los procesos de regeneración y formación ósea y aumenta la deposición de calcio en las células de la médula ósea.

c) Métodos de extracción de saponina

Método mecánico por lavado o vía húmeda

Los granos de quinua se someten a remojo, agitación, enjuague y escurrimiento, en agua circulante o fija, donde la saponina se elimina por solubilización con el agua de lavado (Huaman, 2018).

Independientemente de las condiciones que se utilicen al aplicar exclusivamente la vía húmeda, una sola pasada no sería suficiente para rebajar el contenido de saponinas a un nivel aceptable para el consumidor por lo cual también se deben evaluar los costos de estos procesos. (Bacigalupo, 1990)

En caso del proyecto de investigación, se utilizó el desaponificado vía húmeda para extraer la saponina en forma líquida.

Máquina escarificadora

Este método utiliza una máquina cuyo funcionamiento consiste en pelar los granos de quinua, eliminando la saponina que existe en la cascara de la misma, las máquinas se componen de una tolva y un sistema escarificador, compuesta de paletas las cuales se encargan de pelar los granos de quinua, un sistema de ventilación y separación de impurezas que está compuesta por un ventilador y una malla, por último, un ciclón que separa los granos del polvo, para obtener así una quinua escarificada (Shunta, 2018).

Método combinado

Este método se utiliza para variedades que poseen un elevado contenido de saponina. Para ello, la ejecución de un método combinado resulta bastante aceptable para la eliminación eficaz de las saponinas de la quinua. Este método consiste en la aplicación del escarificado, proceso con el cual se elimina un elevado porcentaje de saponina para luego someter los granos a lavado para eliminar el remanente de saponina. De esta forma, el grano no es expuesto excesivamente a la humedad y el proceso de secado es mucho más rápido y barato (Nieto, 1994)

d) Determinación de saponina

Existen varias reacciones coloridas que pueden determinar la presencia de saponina en el extracto, y otras como la siguiente, que no necesitan de los activos químicos para determinar la presencia de saponina (Fernandez, 1996).

Prueba de espuma

Dado que las soluciones de saponinas presentan actividad óptica, es cómo medir el contenido de sólidos solubles en solución utilizando un refractómetro (también conocido comúnmente como brixómetro) tal y como se hace en la industria vitivinícola (Fernandez, 1996).

Como primer paso se indica tomar 1 mm de cada fracción (polar y apolar) en tubos de ensayos separados, añadir 9 mm de agua cada uno (Fernandez, 1996).

Luego utilizar 1 mm de esta solución en un tubo de ensayo pequeño agitar vigorosamente por 30 segundos y dejar en reposo la muestra durante 15 minutos (Flores, 2017).

La proporción de saponinas se mide de acuerdo con la altura de la espuma del sobrenadante, como lo indican las viñetas a continuación.

- Altura de menos de 5 mm= no se detectan saponinas
- Altura de 5- 9mm= contenido bajo
- Altura de 10- 14 mm = contenido moderado
- Altura mayor de 15 mm = contenido alto en saponinas

Como ya se mencionó antes el método más preciso para determinar la concentración de saponinas en solución es la cromatografía líquida de alto desempeño HPLC (Flores, 2017).

Este método indica la concentración de saponinas y el perfil del extracto o solución y permite mostrar el efecto de la hidrólisis por el cambio significativo de perfil (Fernandez, 1996).

4.2.2 Saponina comercial

Es un producto orgánico formulado a base de saponinas de origen vegetal que controla de forma efectiva la población de nematodos fitopatógenos, los componentes de este producto actúan por contacto y sus propiedades se le atribuye al efecto que las saponinas producen al alterar la permeabilidad y el suministro de esteroides de la membrana celular provocando un desequilibrio interno en el metabolismo interno del nemátodo (Grupo Novalty, s.f.).

Este producto fue adquirido en el local comercial AgrOrgánicos Cusco, el cual anteriormente lo vendía a granel, bajo el nombre de Clavex.

Tabla 01**Composición y propiedades físicas de la saponina comercial**

COMPOSICIÓN	
Saponinas de origen vegetal	: 100 ml/L
Aditivos	: c.s.p. 1/L

PROPIEDADES FÍSICAS / QUÍMICAS	
Estado	: Concentrado soluble (SL)
Color	: Azul
Olor	: Característico 100 %
Solubilidad	: soluble en agua
Estabilidad	: Estable bajo condiciones normales de temperatura, humedad y luminosidad.
Densidad	: 1.2 ± 0.05 g/ml
pH (0.1%)	: 5 ± 0.5

4.2.3 Quinua**4.2.3.1 Variedades De Quinua Internacional**

La quinua tiene más de tres mil variedades, estas son cultivadas y silvestres, las mismas se resumen en cinco categorías básicas según el gradiente altitudinal: ecotipos del nivel del mar, del altiplano, de valles interandinos, de los salares y de los Yungas (FAO, 2014). En la actualidad se estiman variedades y ecotipos de quinuas amargas, semidulces y dulces, esta clasificación se debe al contenido de saponinas entre 0 y 3% en granos secos (Prado, 2018).

Las denominadas amargas cuentan con un contenido de saponina entre 1 y 3%, las quinuas dulces cuentan con un contenido de saponina entre 0,0 y 0,1% y las semidulces entre 0,1 -1% (Güçlü-Üstündag, 2007).

Cuadro 01: Comparación de variedades de la quinua a nivel internacional

Origen País	Varietal/cultivo/ Ecotipo	Contenido de saponina en (%)	Genotipo *	Referencia
Colombia	Blanca dulce	-	Dulce	Delgado, 2013
	Tunkahuan	-	Dulce	
	Amarilla de marangani	Alto	Amarga	
	Blanca de Nariño	Bajo	-	Fuentes, 2008
	SL 47	-	Dulce	Delgado, Palacios, & Betancourt, 2009
	Piartal	-	Dulce	
	Tunkahuan	-	Dulce	
	Dorada de Bolivia	-	-	Guerrero et al., 2017
	Blanca de Jericó	-	Dulce	Betancourth et al., 2006; Sañudo & Betancourt, 2005
	Aurora dulce Nariño	-	Dulce	Guerrero et al., 2017
Purpura	-	Dulce	Benavides, Rodríguez, Sanchez, & Jurado, 2018	
Ecuador	INIAP- Ingapirca	-	-	Ministerio de agricultura y desarrollo rural & Colombia, 2005
	INIAP- Imbaya	-	-	
	INIAP-Cochasqui	-	-	
	ECU-420	-	-	
	Masal 389	-	-	
	INIAP Tunkahuan	Poco	Dulce	Peralta et al., 2012
INIAP Pata de venado	Poco	Dulce		
Perú	Amarilla de Marangani	Alto	-	Apaza, Cáceres, & Pinedo, 2013
	Rosada de Taraco	Alto	-	
	INIA 427 - Amarilla Sacaca	Alto	-	
	Quillahuaman INIA	Regular	-	
	Huancayo	Regular	-	
	Rosada de Junin	Regular	Dulce	
	Blanca de Juli	Poco	Semidulc e	
	Rosada de Yanamango	Poco	-	
	Kankola	Poco	-	
	Witulla	Medio/alto	-	
Tahuaco	Alto	-		
Bolivia	Camacani	Alto	-	Fuentes, 2008
	Salares	Alto	-	
	Sajama	-	-	Ministerio de agricultura y desarrollo rural & Colombia, 2005
	Sayana	-	-	
	Chucapaca	-	-	
	Kamiri	-	-	
	Real	-	-	
Toledo	-	-		

Fuente: Prado (2018)

4.2.3.2 Variedades de quinua más comerciales en Perú

Las variedades que actualmente son más comerciales en Perú se muestran en el siguiente cuadro, juntamente con la cantidad de efusión que posee cada variedad, y como se puede observar la Variedad Amarillo de Marangani posee mucha efusión de saponina, por esta razón fue elegida la variedad ideal para la ejecución de este proyecto de investigación.

Cuadro 02: Variedades de quinua con mayor efusión de saponina

Nombre de la variedad	Efusión de saponina	Color de pericarpo	Color de episperma	Tamaño de grano	Zonas de producción
INIA 431 - Altiplano	Nada	Crema	Blanco	Grande	Altiplano-Costa
Inia 427 – Amarilla Sacaca	Mucha	Amarillo	Blanco	Grande	Valles Interandinos
INIA 420 – Negra Collana	Nada	Gris	Negro	Pequeño	Altiplano, Valles interandinos, Costa
INIA 415 – Pasankalla	Nada	Gris	Rojo	Mediano	Altiplano, Valles interandinos, Costa
Ilpa INIA	Nada	Crema	Blanco	Grande	Altiplano
Salcedo INIA	Nada	Crema	Blanco	Grande	Altiplano, Valles interandinos, Costa
Quillahuaman INIA	Regular	Crema	Blanco	Mediano	Valles interandinos
Ayacuchana INIA	Regular	Crema	Blanco	Pequeño	Valles interandinos
Amarilla Marangani	Mucha	Anaranjado	Blanco	Grande	Valles interandinos
Blanca de Juli	Poca	Crema	Blanco	Pequeño	Altiplano
Blanca de Junín	Regular	Crema	Blanco	Mediano	Valles interandinos, Costa
Cheweca	Poca	Crema	Blanco	Mediano	Altiplano
Huacariz	Poca	Crema	Blanco	Mediano	Valles interandinos
Huahuas	Nada	Crema	Blanco	Mediano	Valles interandinos
Huancayo	Regular	Crema	Crema	Mediano	Valles interandinos
Kankolla	Poca	Crema	Blanco	Mediano	Altiplano
Mantaro	Nada	Crema	Blanco	Mediano	Valles interandinos
Rosada de Junín	Regular	Crema	Blanco	Pequeño	Valles interandinos
Rosada Taraco	Mucha	Crema	Blanco	Grande	Altiplano
Rosada de Yanamango	Poca	Crema	Blanco	Mediano	Valles interandinos

Fuente: (Apaza V. , 2013)

a) Variedad amarilla de Marangani

Posee color de grano amarillo, la panoja es anaranjada en la madurez, el diámetro del grano es de 2,00 mm, el rendimiento de la semilla por planta 85,00 a 97,00 gramos, es tolerante al mildiu, su contenido de saponina es 7% y una efusión de saponina alta. El valor nutricional de esta variedad por 100 gramos en proteína es del 13,85%, en humedad 8,72%, en fibra 2,56% y en cenizas 2,00% (Apaza, 2010) y es considerada una variedad amarga (Delgado, 2013)

4.2.4 Enfermedad mancha chocolate en cultivo de haba

4.2.4.1 Botrytis fabae

La mancha chocolate es una enfermedad que afecta principalmente al cultivo de haba desde la etapa de emergencia, afectando hojas, tallos, flores, vainas verdes y granos. En las zonas altas es considerada una enfermedad destructiva. El síntoma distintivo de esta enfermedad es el color marrón chocolate que se encuentra sobre las hojas, no obstante, esta sintomatología corresponde a la fase no agresiva de la enfermedad (Coca, 2007).

Estas manchas tendrán un color más oscuro, ya que se volverán necróticas; también están cubiertas con abundantes formaciones de vellosidades de color marrón grisáceo, la cual está formada por conidióforos y conidias del hongo. Esta sintomatología corresponde a la fase agresiva del patógeno. Acabose de la severidad de la enfermedad ocurre la defoliación y abscisión de flores y hojas (Coca, 2007).

Las características claves de esta enfermedad son las manchas color chocolate sobre las hojas que posteriormente se van secando o necrosando, la defoliación de flores y hojas, la pudrición de vainas y los granos secos que presentan manchas en la cáscara (Doussoulin, 2010).

La mancha chocolate es la enfermedad principal que afecta al cultivo de haba en las hojas, tallos, flores, vainas y granos; porque debido a la humedad, ataca a la planta desde la germinación hasta la madurez (Coca, 2007).

a) *Ciclo de enfermedad*

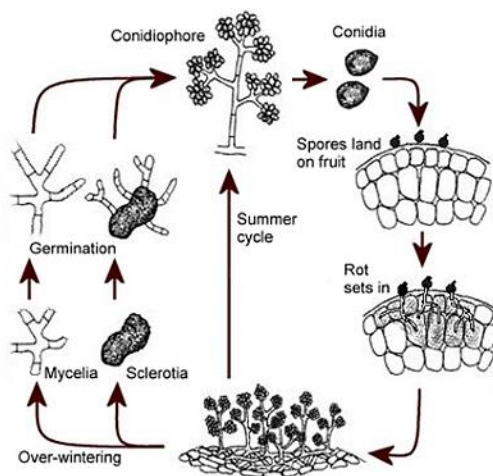
Las nuevas infecciones pueden iniciar en la primavera en la mayoría de las plantas susceptibles tan pronto como las condiciones climáticas sean beneficiosas o exista clima húmedo para la propagación de la enfermedad (Agrios, 1997).

Para algunas dosis de *Botrytis fabae*, los esclerocios se desarrollan en el tejido vegetal muerto y forman la etapa latente del hongo. El micelio de *Botrytis fabae* también puede pasar el invierno en rastrojos y tallos leñosos infectados. Los esclerocios germinan en primavera y los micelios se desarrollan a partir de restos infectados y esporas infecciosas.

Cabe destacar que las conidias son transportadas por el viento, salpicadura de lluvias para causar nuevas infecciones en el tejido hospedero susceptible (Agrios, 1997).

Figura 5

Ciclo biológico del hongo fitopatógeno Botrytis fabae



Fuente: (Agrios, 1997)

b) Factores que influyen en la aparición de Botrytis fabae

El factor más esencial para la aparición de *Botrytis* es la humedad, ya que está es indispensable para su desarrollo. La enfermedad tendrá más posibilidades de causar una infección por hongos a las plantas, cuánto más elevado sea el grado de humedad en el ambiente (Atacushi, 2015).

La temperatura ideal para el desarrollo de *Botrytis* es de 17° a 25°C, no obstante, también puede aparecer con temperaturas más elevadas (Flores, 2017).

La gran diferencia de temperaturas entre el día y la noche también beneficiará la aparición del moho, porque cuando las temperaturas descienden drásticamente al final del día se da un incremento de la humedad en el ambiente (Atacushi, 2015).

Los factores que hacen más vulnerable al cultivo de haba hacia esta enfermedad son el crecimiento vegetativo abundante y el alto grado de humedad ambiental.

Los meses más favorables para el desarrollo de la enfermedad van desde el mes de enero al mes de marzo, ya que éstas manchas alcanzan a los tallos, flores y vainas, transformándose en verdaderos tizones foliares color chocolate.

La enfermedad mancha chocolate se desarrolla en condiciones de alta precipitación. Dicha enfermedad provoca manchas de color marrón chocolate en diversas partes de la planta, las cuales van agudizándose según el desarrollo de la enfermedad (Lopez, 2009).

No obstante, se puede realizar un control cultural como por ejemplo desinfección de la semilla, recurrir a la rotación de cultivos, selección de densidades de siembra apropiadas, remoción de material infectado del campo, uso de semilla certificada y variedades resistentes a la enfermedad.

c) Control de Botrytis fabae

INIAF (s.f.) Resalta que entre los métodos para controlar *Botrytis fabae* están:

Termoterapia

El método consiste en remojar las semillas en agua tibia en lugar de agua hirviendo, dicha inmersión se realiza durante 3 a 5 minutos, ya que con esta acción controlaremos algunas enfermedades que transmiten las semilla. (Flores, 2017)

Uso de fungicidas

Este método se lleva a cabo utilizando fungicidas químicos especiales. Como *Botrytis fabae* se desarrolla cuando hay demasiada humedad, será de gran importancia procurar mantener el grado de humedad ambiental lo más bajo posible (menos del 50%) en la etapa de floración. También se deberá dejar suficiente espacio entre plantas para que el aire pueda fluir fácilmente y la humedad no se quede paralizada en el cultivo. Es de gran importancia limpiar con frecuencia el cultivo no dejar restos de materia orgánica o vegetal. También es indispensable no tocar los cogollos (Flores, 2017).

Es preferible regar en horas de la mañana, porque si el riego se produce por la tarde aumentaría demasiado la humedad durante la noche. Debemos tomar en cuenta el riego a finales de la floración. Una desmesura de agua sería demasiado arriesgada y podría perjudicar los cogollos de la planta haciendo que estos se pudran (Flores, 2017).

Control con métodos naturales

Este método consiste en el uso de todas las formas de combate de modo compatible y de forma complementaria, procurando así el uso mínimo de agroquímicos para evitar la destrucción de microorganismos útiles en el combate. En resumen, no originar la contaminación ambiental con el uso desmedido de fungicidas químicos. (Minchez, 2015)

Las labores culturales son las principales actividades que los productores realizan para eliminar a las enfermedades (Minchez, 2015).

Las labores culturales para resaltar son las siguientes: Rotación de cultivos, preparación del terreno, tratamiento y uso de semillas de calidad, control de malezas, utilización del distanciamiento entre plantas, sembrar en épocas distintas, realización de aporques, deshierbes, eliminación de plantas infectadas (Flores, 2017).

Extractos Vegetales

Son componentes aromáticos, volátiles y aromáticos de diversas sustancias de origen terpénico, formados durante la biosíntesis, generalmente producidos por plasma, liberados en la vacuola y liberados por ella al exterior de la planta (Minchez, 2015).

Se conocen desde hace años atrás, sin embargo, durante mucho tiempo fueron superadas por los fungicidas actualmente en uso.

Hoy en día, las dosis y los usos de los fungicidas naturales son más familiares y prácticos de manejar, y muchas de estas plantas son fáciles de cosechar y cultivar.

4.2.5 Fungicida Arado

Arado es un fungicida que mezcla dos ingredientes activos que le confiere acción de superficial y sistémica. Se usa en forma preventiva y curativa, logrando un eficiente control en enfermedades como la rancha en papa y mildiu en cebolla (Agro Karina, 2024)

Figura 6

Ficha Técnica del Fungicida Arado

FICHA TÉCNICA
PROTECCIÓN DE CULTIVO

ARADO[®]

Una empresa **anasac**

REG. PQUA N° 1334 – SENASA

CARACTERÍSTICAS GENERALES

Es un fungicida que mezcla dos ingredientes activos que le confiere acción de superficial y sistémica. Se usa en forma preventiva y curativa.

FORMULACIÓN

ARADO es un fungicida formulado como Suspensión Concentrada - SC, que contiene 500 gramos de Chlorothalonil y 108 gramos de Dimethomorph por Kilogramo de producto formulado.

GRUPO QUÍMICO

Chlorothalonil: Phtalamidas
Dimethomorph: Morfolinas.

MODO DE ACCIÓN

ARADO al estar compuesto por chlorothalonil impide la germinación de esporas y la penetración en las células de la planta, impidiendo al hongo obtener energía necesaria para sus procesos vitales. Dimethomorph tiene acción anti esporulante, lo que disminuye el potencial de diseminación.

CUADRO DE USOS

“CONSULTE CON UN INGENIERO AGRÓNOMO”

CULTIVO	ENFERMEDAD		DOSIS		P.C. (días)	LMR (ppm)
	Nombre Común	Nombre Científico	L/200L	L/Ha		
Papa	Rancha o Tizón tardío	<i>Phytophthora infestans</i>	0.55 - 0.70	-	14	0.2 ⁽¹⁾ 0.05 ⁽²⁾
Cebolla	Mildiu	<i>Peronospora destructor</i>	-	1.75	14	0.01 ⁽¹⁾ 0.6 ⁽²⁾
Vid	Mildiu	<i>Plasmopara viticola</i>	-	1.5	28	3.0 ⁽¹⁾ 3.0 ⁽²⁾

PC: Período de Carencia en días.
LMR: Límite máximo de residuos en ppm. (1) Chlorothalonil (2) Dimethomorph

4.2.6 Cultivo de haba

4.2.6.1 Origen

Este cultivo tiene su origen en Oriente Medio, extendiéndose rápidamente por todo el Mediterráneo, casi desde los inicios de la agricultura. Fueron los romanos quienes eligieron el tipo de haba de grano grande y aplanado que ahora se come como un alimento verde, que se extiende a lo largo de la Ruta de la Seda hasta China y lo trajeron a las Américas después del descubrimiento del Nuevo Mundo. (Velazquez, 2020)

4.2.6.2 Clasificación taxonómica

Clasificación sistemática del haba (*Vicia faba*).

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Subfamilia: Faboideae

Género: *Vicia*

Especie: *Vicia faba*

(Mujica, 2007)

4.2.6.3 Morfología

Tienen un tallo verde, fuerte, anguloso, hueco, ramificado y que alcanza una altura de 1,5 m. Según el ahijamiento de la planta varía el número de tallos. Con hojas alternas, compuesta, paripinnadas, con folio los anchos ovals - redondeados, de colores verdes y desprovisto de

zarcillos; las flores son axilares, agrupadas en racimos cortos de 2 a 8 flores, las cuales poseen una mancha grande de color negro o violeta en las alas, qué raras veces van desprovistas de mancha (Flores, 2017).

Un fruto en legumbre de longitud variable, pudiendo alcanzar una longitud máxima superior a 35 cm, el número de granos oscila entre 2 a 9 granos y el color de la semilla es amarillo verdoso, aunque existen otros colores más oscuros según la variedad. (Coca, 2007)

La cosecha puede comenzar de 140 a 175 días después de la siembra, la cosecha de granos verdes se hace en dos o tres etapas que duran entre 4 y 5 semanas, aproximadamente, recolectando únicamente las vainas que están maduras, lo cual se sabe cuándo, al apretar la con los dedos, se sienten duras (INIAF, 2017).

En los cultivares de variedad mayor, los cuales producen semillas de mayor tamaño (también llamados habones) la longitud de la vaina es más corta, alcanzando una media de 15 cm o menos.

4.2.6.4 Etapas fenológicas del cultivo de haba

a) Germinación

La fase de germinación comienza con la inhibición de las semillas y continúa después de unos días con la aparición de las raíces.

b) Emergencia

La plántula recién emergida tiene una radícula vigorosa y presenta sus dos primeras hojas unidas en posición vertical sin desplegarse (Paredes, 2007).

c) Formación de raíces

Las raíces son muy vigorosas desde el momento en que comienzan a crecer y un gran número de raíces secundarias brotan poco después de la emergencia. La radícula se va transformando gradualmente en una raíz pivotante, que penetra el suelo en forma relativamente rápida, por otro lado, el sistema radical es en definitiva bastante vigoroso, generándose largas raíces laterales a partir de la raíz pivotante (Paredes, 2007).

d) Desarrollo de las hojas

Tras la apertura de la primera hoja verdadera, el tallo principal se alarga y aparecen dos hojas rudimentarias casi imperceptibles, son alternas y se ubican en los dos primeros nudos debajo de la primera hoja. En resumen, el primer nudo corresponde al nudo donde aparece la primera hoja verdadera.

e) Formación del tallo principal y ramas

La mayoría de las ramas comienzan a desarrollarse muy temprano después de la germinación, siendo visible cuando el tallo principal tiene un promedio de unas tres hojas. Estas ramas, que son de importancia menor, igualmente alcanzan un desarrollo relativamente importante, el cual se expresa en 10 o más nudos totales por rama (Paredes, 2007).

f) Aparición del órgano floral

Aparecen los primeros botones florales, individuales, visibles por fuera de las hojas, pero aun cerrados (Tineo, 2011).

g) Etapa de Floración

La floración comienza desde el primer nudo reproductivo en el tallo principal y se generaliza rápidamente a los primeros nudos de las ramas, a partir del tercer nudo reproductivo aumenta el número de flores y lo más probable es que llenen las vainas (Paredes, 2007).

h) Formación de las vainas

Primeras vainas legumbres han desarrollado en su totalidad.

i) Etapa de llenado de granos

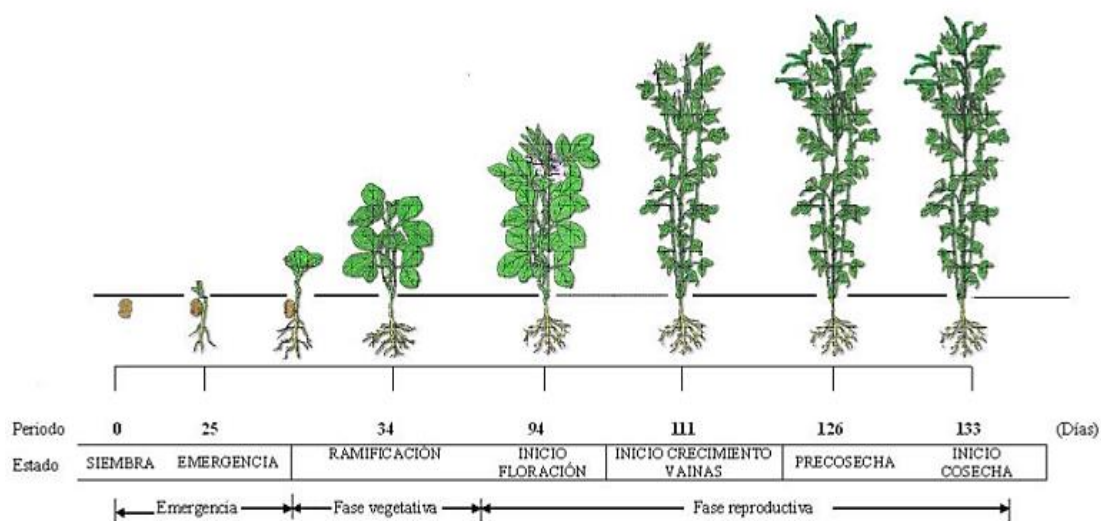
El alargamiento de las vainas y el crecimiento de los granos se producen en forma simultánea, los granos inmaduros van incrementando su tamaño hasta alcanzar su madurez óptima para consumo en verde con una humedad de 72 a 74% como promedio (Paredes, 2007).

j) Etapa de la senescencia

En cuanto a las vainas, pierden humedad y el color verde se apagando gradualmente hasta que se vuelven amarillas y empiezan a marchitarse. Con el tiempo, las vainas pierden su elasticidad y se vuelven negras, lo que hace que las semillas se sequen y se endurezcan por dentro.

Figura 7

Etapas del periodo vegetativo del cultivo de haba



Fuente: (Arratea, 2011)

4.2.6.5 Requerimientos Edafoclimáticos

Aunque no es de las más exigentes prefiere temperaturas uniformes templado-cálidas y los climas marítimos mejor que los continentales. En climas más fríos, la siembra se realiza mayormente en primavera ya que sus semillas no germinan a temperaturas que superan los 20°C. Temperaturas superiores a los 30°C durante el periodo comprendido entre la floración y el cuajado de las vainas, puede provocar abortos tanto de flores como de vainas inmaduras, aumentado la fibrosidad de estas, las vainas son muy sensibles a la falta de agua, especialmente desde la floración hasta el llenado de las vainas (Infoagro).

Es poco exigente en suelo, aunque prefiere suelos arcillosos o silíceos y arcillosos calizos ricos en humus, profundos y frescos. Le perjudican los suelos húmedos mal drenados. El pH óptimo está entre 7,3 y 8,2. Es relativamente tolerante a la salinidad (Infoagro).

4.2.6.6 Labores Agronómicas

a) Labores de siembra

Dependiendo del tamaño de la semilla se pueden utilizar de 100 a 120 kg de semilla/ha, tomando en cuenta de 2 a 3 semillas por cada golpe de siembra (SENASA P.). Además, que la siembra para grano seco se lleva a cabo durante los meses de setiembre y octubre, mientras que para grano verde las siembras se realizan durante los meses de abril a mayo, cabe señalar que para la desinfección de semillas durante la siembra sólo se podrán utilizar insecticidas aprobados por el SENASA y deberán ser registrados (SENASA P.).

b) Control de malezas

(SENASA P.) indica que los métodos de control de malezas que se pueden usar para el cultivo de haba son:

- **Control cultural:** Consiste en la eliminación de las malezas por medios manuales o mecánicos, cuando éstas ya hayan aparecido en campo.
- **Control químico:** Utilizar herbicidas aprobados por SENASA y se recomienda la rotación de herbicidas para que las malezas no se vuelvan resistentes al producto.

c) Aporque

Con el aporque se profundizan los surcos para facilitar el drenaje y el riego. Esta labor es recomendada para favorecer el desarrollo del sistema radicular de las plantas y mejorar el anclaje, evita que las plantas se tumben, controla la sobrepoblación de malezas, además de exponer al sol las posturas de algunas plagas, airear el suelo y permitirle a la planta desarrollar un mayor número de tallos. En el cultivo de haba el aporque se realiza usualmente al momento previo de la floración, cuando la planta tiene una altura de 30 a 40 cm.

d) Manejo de la cosecha y post cosecha

➤ De la cosecha

La planta de haba está lista para cosechar cuando las hojas basales secan, las vainas se caen y se vuelven marrones, también cuando las habas tienen el hilum de color negro y se ponen duras (SENASA P.).

➤ Arranque

En el Perú se realiza manualmente y esta consiste en arrancar las vainas de la planta.

➤ ***Pre – secado***

Esta actividad se realiza bajo el sol y cuando no llueve en la zona. Este proceso consiste en colocar las vainas en el suelo y exponerlas a la luz solar hasta que se sequen. Se recomienda que el ancho de la cama no supere los 1,5 m.

➤ ***Pelado o trillado***

Este procedimiento consiste en separar las habas de la vaina y que para ello existen diferentes técnicas (SENASA P.).

- El pelado manual
- Pelado con palo, consiste en golpear las vainas hasta que las habas se desprendan
- Mecánica, con uso de maquinaria trilladora.

➤ ***Secado***

Se trata de colocar las habas al sol, normalmente sobre una manta o bolsa, para mantenerlas alejados del suelo y, lo más importante, facilitar su procesamiento. Algunos agricultores también preparan pequeñas “camas” de malla que les permiten tener una mejor ventilación y así evitar la presencia de hongos o contaminación animal. Se recomienda recogerlas por la noche para protegerlas del mal tiempo. El contenido de humedad del grano no debe exceder el 15%. Una vez que las habas alcancen los niveles de humedad deseados se recolectan y se colocan en sacos limpios los cuales servirán para su envío y venta.

4.2.6.7 Producción e importancia económica

a) Producción

Con 86.400 toneladas anuales de haba en 52.400 hectáreas de tierra cultivada en la sierra peruana, el cultivo de haba es actualmente la segunda leguminosa más importante del país después del frejol (Choque, 2020).

Cusco, Puno y Huancavelica son las regiones de producción de haba más destacadas. Asimismo, se cultivan alrededor de 14.000 hectáreas de haba para recolección de vaina verde, de las cuales se obtienen 60.000 toneladas del grano seco (Choque, 2020).

“Los principales productores para otros mercados son Junín, Arequipa y Huancavelica” (República, 2020).

De acuerdo con la revista Agro noticias, la producción de haba en el Perú ha crecido exponencialmente en los últimos años, pasando de 49.000 toneladas en el 2011 a 86.400 toneladas al cierre del 2019 (Choque, 2020). Esto es un incremento del 75 % durante el mismo periodo.

Asimismo, la exportación de este rubro alimenticio a 16 mercados alrededor del mundo tuvo un valor de más de 5 millones de dólares estadounidenses el año pasado.

Alrededor de 25.000 hogares en todo el país están involucrados en el cultivo y la cosecha de habas, que son su principal fuente de sustento, incluso por encima de la papa en algunos casos (Choque, 2020).

Esto gracias a su aporte de nitrógeno atmosférico al suelo (conocido como auto abonamiento), constituyéndose en una buena alternativa en la rotación de cultivos. (República, 2020)

b) Importancia económica

Desde su introducción al Perú, el cultivo de haba ha tenido una función social muy importante, ya que puede ser utilizado directamente como alimento del hombre, que las consume en grano verde o seco. Incluso relegó al cultivo de tarwi; (*Lupinus mutabilis*) leguminosa que estuvo muy difundida desde años anteriores a la Conquista Española. Es fuente de empleo y sustento para gran parte de la población rural, como los cultivos de papa y maíz. Esto es importante porque se pueden obtener beneficios económicos con una pequeña inversión y pueden consumirse como grano seco o verde, incorporarse a suelos pobres como fertilizante y la granza es un alimento para el ganado. Debido al alto contenido de proteínas, carbohidratos, vitaminas y sales minerales, es un alimento valioso para personas de bajos ingresos. (Horque, 2004)

4.2.6.8 Variedades

Cerrate, Camarena, & Chiape (1981), indican que entre las variedades más utilizadas en todo el Perú se tienen:

a) Sierra norte

- Variedad Grande rayada
- Variedad Mediana plumiza

b) Sierra central

- Variedad Pacae blanco Mantaro
- Variedad Pacae rojo Mantaro

Existiendo otras variedades como la ‘Mahon Negra’, ‘Mahon Blanca’, ‘Tencro’, ‘Agua Dulce’, ‘Sincos’, con características de ser precoces y son cultivadas en la costa, en pequeñas

áreas, dado que no se adaptan a la sierra, demostrando ser susceptibles al ataque de enfermedades y plagas.

c) Sierra sur

La Estación Experimental Agraria Andenes - Cusco ha obtenido las siguientes variedades con características favorables, para condiciones de la sierra sur (Cusco) (Horque, 1984).

- Variedad Verde Anta
- Variedad Blanco Anta
- Variedad Chacha de Anta
- Variedad Quelcao de Anta
- Variedad Raymi (línea para ser inscrita como variedad)
- Variedad Cusqueñita (línea avanzada con características favorables en parcelas de comprobación)

4.2.6.9 Características variedad de haba verde anta

Verde Anta Semillas con tegumento color verde, hilio de color negro, de tamaño grande, con peso promedio de 155 g para 100 granos secos. Tallo fuerte y robusto, de 100 a 150 cm de altura con 6 macollos. Las hojas tienen un promedio de 5 a 6 folíolos de tamaño mediano, elípticos con bordes ligeramente ondulados. Las flores son blancas o moradas a lo largo del tallo. Frutos verdes en el primer estadio negro al madurar; con 1 a 4 vainas por nudo, con longitud de 9,5 a 15,5 cm y un ancho de 1,6 a 2,8 cm conteniendo 2 semillas por vaina y rendimiento promedio de 2 000 kg/ha grano seco (Horque, 2004).

4.3 Definición de términos

Aglicón: Aglucona o genina en química orgánica es el agrupamiento no glucídico de un heterósido, es el compuesto sin azúcares que queda tras reemplazar por un átomo de hidrógeno el grupo glicosilo de un glucósido (IUPAC, 1997).

Alelopatía: Es un fenómeno biológico por el cual un organismo produce uno o más compuestos bioquímicos (alelo químicos) que influyen en el crecimiento, supervivencia o reproducción de otros organismos (Fernández, 1986).

Antimicrobiano: Es una sustancia química que, a bajas concentraciones, actúa contra los microorganismos, destruyéndolos o inhibiendo su crecimiento. Algunos ejemplos de antimicrobianos dirigidos a las bacterias son los antibióticos que actúan contra las infecciones humanas o animales, y los biocidas como los desinfectantes y los conservantes (GreenFacts, 2001-2023).

Concentración: Es la proporción o relación que hay entre la cantidad de soluto y la cantidad de disolución o, a veces, de disolvente; donde el soluto es la sustancia que se disuelve, el solvente es la sustancia que disuelve al soluto, y la disolución es el resultado de la mezcla homogénea de las dos anteriores. A menor proporción de soluto disuelto en el solvente, menos concentrada está la solución, y a mayor proporción más concentrada está. Una disolución es una mezcla homogénea a nivel molecular, de dos o más sustancias (Carmona, 2011).

Conidio: Es una espora asexual inmóvil formada directamente a partir de una hifa o célula conidiógena o esporógena. Aparecen en *Ascomycotina*, *Deuteromycotina* y algunos *Basidiomycotina*. Se utiliza también para las esporas de las bacterias del género *Streptomyces*. El término 'conidio' se utiliza también como sinónimo de exospora, esporas

de las bacterias fungoides del grupo de las actinobacterias, como las del género *Streptomyces* (Navarra, 2020).

Conidióforo: Es una estructura microscópica especializada en la producción asexual de miles de esporas llamadas conidias. Se localizan al extremo de hifas las cuales levantan la conidiófora en el aire con el fin de esparcir las esporas con más eficiencia. Algunas conidioforas (en el *Geotrichum candidum*, por ejemplo) son de un filamento, mientras que otras (en el *Trichoderma viride*, por ejemplo) son ramificadas (Lumitos, 2024).

Defoliación: Caída prematura de las hojas de los árboles y plantas, producida por enfermedad, contaminación ambiental o acción humana (RAE, 2024).

Dosis: En farmacología se entiende por dosis es el contenido de principio activo de un medicamento, expresado en cantidad por unidad de toma, por unidad de volumen o de peso en función de la presentación, que se administrará de una vez (Lumitos, 2024).

Ecotipo: Variedad geográfica, población, o la raza, dentro de unas especies, es decir, genéticamente adaptadas a un hábitat determinado. Un ecotipo generalmente exhibe diferencias fenotípicas, pero es capaz de cruzarse con otros ecotipos (OMS, 2012).

Fungicida: Los fungicidas son sustancias que se emplean para eliminar o impedir el crecimiento de hongos y mohos perjudiciales para las plantas, o animales. La mayoría de los fungicidas de uso agrícola se fumigan o espolvorean sobre las semillas, hojas o frutas para impedir la propagación de enfermedades como la roya, el tizón, los mohos, el mildiu, oidio, botrytis, entre otros (Barioglio, 2006).

In situ: *In situ* es una expresión latina que significa 'en el sitio' o 'en el lugar', y que suele utilizarse para designar un fenómeno observado en el lugar, o una manipulación realizada en el

lugar. En ciencia, *in situ* designa el análisis de un fenómeno exactamente en el lugar y condiciones donde el mismo se desarrolla (sin desplazamiento a un medio o lugar especial, y sin modificación de las condicionantes usuales o naturales) (Real Academia Española, 2011).

In vitro: *In vitro* es una expresión latina que significa 'en vidrio', se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo. La fecundación *in vitro* es un ejemplo ampliamente conocido (Real Academia Española, 2011).

Incidencia: Incidencia se refiere al número de unidades de las plantas que están enfermas visiblemente, usualmente relativo al número total de unidades estimadas. Si se considera a la planta como una unidad de medida, entonces, la incidencia de una enfermedad es la proporción o porcentaje de plantas con síntomas de la enfermedad evaluada (Castaño, 2002).

Inhibición: Es la acción de impedir, reprimir o prohibir una acción, un hábito o una facultad. En el campo de la biología y sobre todo la bioquímica, el concepto de inhibición se aplica al impedimento o interrupción de reacciones químicas controladas, como consecuencia de la acción de determinadas proteínas (enzimas, por ejemplo) o sustancias farmacológicas (Etecé, 2013-2024).

Necrosis: Es un síntoma de enfermedad en las plantas caracterizado por la muerte prematura de las células de un tejido u órgano. La necrosis está causada por factores externos a la planta, tales como la infección por un patógeno, toxinas o trauma. Esta es la diferencia con la apoptosis, la cual es una causa natural de muerte celular. La zona necrótica se observa seca, de color blanquecino, pardo, grisáceo o rojizo (Jauch, 1979).

Patógeno: Los patógenos son agentes infecciosos que pueden provocar enfermedades a su huésped. Este término se emplea normalmente para describir microorganismos como los virus, bacterias y hongos, entre otros (Bromatech, s.f.).

Rendimiento agrícola: También conocido como "productividad agrícola" o "producción agrícola" es una medida de la cantidad de un cultivo cultivado, o producto como lana, carne o leche producida, por unidad de superficie de tierra. La proporción de semillas es otra forma de calcular la productividad agrícola (Our World in Data, 2021).

Saponina: Son glucósidos de esteroides o de triterpenoides, llamadas así por sus propiedades semejantes a las del jabón, cada molécula está constituida por un elemento soluble en lípidos y un elemento soluble en agua (el azúcar), y forman una espuma cuando se las agita en agua. Las saponinas son tóxicas, y se cree que su toxicidad proviene de su habilidad para formar complejos con esteroides, por lo que podrían interferir en la asimilación de estos por el sistema digestivo, o romper las membranas de las células tras ser absorbidas hacia la corriente sanguínea. Existe una gran variedad de plantas que contienen saponinas en distintas concentraciones, como por ejemplo la yuca, el ginseng, la quinua, el quillay, entre otros (Zeiger, 2006).

Severidad: la severidad de una enfermedad se refiere al área de tejido de la planta que se encuentra enferma. Esta puede ser estimada y expresada bien sea como área total o porcentaje de tejido de la planta con síntomas de determinada enfermedad. Una estimación o medida de severidad de enfermedad es con frecuencia un proceso más difícil y dispendioso en términos de tiempo. Sin embargo, esta puede ser una medida más importante y útil para la investigación de muchos pato sistemas que relacionan el manejo de una enfermedad, la dinámica poblacional y la estimación de pérdidas en rendimiento (Castaño, 2002).

Sobrenadante: Líquido que queda sobre un sedimento o precipitado, después de producida la sedimentación (Aguamarket, 1999-2024).

Surfactante: También se denominan tensioactivos o tensoactivos, se componen de partes hidrófobas (que rechazan el agua) y partes hidrófilas (que son solubles en agua). De este modo, cuando el surfactante se vincula al agua, las moléculas del primer grupo quedan en el nivel superficial, mientras que las hidrófilas se sumergen. Esto hace que se formen burbujas. Es un elemento que actúa como detergente, emulsionante o humectante y que permite reducir la tensión superficial que existe en un fluido (Gardey & Pérez, 2024).

V. DISEÑO DE LA INVESTIGACION

5.1 Aspectos generales de la investigación

5.1.1 Tipo de la investigación

El tipo de investigación que se realizó fue de tipo exploratoria experimental porque se evaluaron distintos tratamientos para dar solución al problema principal planteado al inicio del proyecto de investigación.

5.1.2 Temporalidad de la investigación

El proyecto de investigación inició en noviembre del año 2022, comenzando por las pruebas piloto que se realizaron en laboratorio para luego continuar con la realización de pruebas en campo y finalmente culminó el mes de febrero del año 2024 con las conclusiones y resultados en laboratorio del presente trabajo de investigación.

5.1.3 Ubicación espacial de la investigación

- ❖ Laboratorio de Biotecnología de la Facultad Ciencias Biológicas de la Ciudad Universitaria de Perayoc – UNSAAC
- ❖ Granja K'ayra

Ubicación Política

- Región: Cusco
- Provincia: Cusco
- Distrito: San Jerónimo
- Sector: Centro Agronómico K'ayra

Ubicación Geográfica

- Latitud: 13°33'24.7''
- Longitud: 71°52'29.8''
- Altitud: 3219 m s.n.m.

Ubicación Hidrográfica

- Cuenca: Urubamba
- Subcuenca: Alto Urubamba
- Microcuenca: Huanaccaure

Límites

- Norte: APV. Chimpahuaylla
- Este: Distrito de Saylla
- Sur: Distrito de Yaurisque
- Oeste: Comunidad campesina Sucso Aucalle

5.2 Materiales y metodología

Los materiales que se utilizaran durante el trabajo de investigación son los siguientes:

5.2.1 Materiales

Materiales de vidrio:

- | | |
|-------------------|--|
| ✚ Matraz aforado | ✚ Portaobjetos |
| ✚ Probeta | ✚ Vasos de precipitados |
| ✚ Placas Petri | ✚ Bagueta o varilla de agitación |
| ✚ Tubos de ensayo | ✚ Láminas portaobjetos y cubreobjetos. |

Equipos:

- | | |
|-------------------|---------------------|
| ✚ Microscopio | ✚ Balanza analítica |
| ✚ Autoclave | ✚ Estufa |
| ✚ Termómetro | ✚ Incubadora |
| ✚ Vernier digital | |

Insumos:

- | | |
|----------------------|-------------------------------------|
| ✚ Agar - Agar | ✚ Saponina Comercial Clavex |
| ✚ Alcohol 70% | (Provista por AgrOrgánicos – Cusco) |
| ✚ Agua destilada | ✚ Adherente |
| ✚ Dextrosa | ✚ Fungicida Arado (Provista por |
| ✚ Azul de lactofenol | Bioagro– Cusco) |
| ✚ Lejía | |

Otros materiales:

- ✚ Guardapolvo
- ✚ Papel filtro
- ✚ Mechero bunsen
- ✚ Marcador indeleble
- ✚ Hornilla eléctrica
- ✚ Pinzas de laboratorio
- ✚ Parafilm
- ✚ Micropipetas
- ✚ Algodón
- ✚ Micropipeta
- ✚ Gasa
- ✚ Cinta adhesiva
- ✚ Material de escritorio
- ✚ Tips
- ✚ Colador
- ✚ Envases de plástico (lavadores)
- ✚ Botellas de plástico de 3 litros
- ✚ Material de limpieza
- ✚ Filtros de 0.22 micrómetros
- ✚ Pipeta
- ✚ Propipeta

Agente fitopatógico:

- ✚ Hongo *Botrytis fabae*

Material vegetal:

- ✚ Semilla de haba de la variedad verde Anta
- ✚ Semillas de la variedad de quinua Amarillo Marangani sin lavar

5.2.2 Metodología

5.2.2.1 Metodología realizada en campo

a) Diseño Experimental

El diseño experimental para la aplicación en campo que se utilizó fue el de bloques completamente al azar (DBCA) con 5 tratamientos y 3 repeticiones.

Los tratamientos aplicados fueron los siguientes:

- Tratamiento 1: Saponina Comercial de la empresa AgrOrgánicos - Cusco
- Tratamiento 2: Fungicida Arado de la empresa Bioagro – Cusco
- Tratamiento 3: Saponina a la concentración 1:1
- Tratamiento 4: Saponina a la concentración 1:5
- Tratamiento 5 o tratamiento testigo: Agua

Cada tratamiento fue sorteado aleatoriamente a cada bloque (repetición).

b) Características y dimensiones del campo experimental

El campo experimental tuvo las medidas de 15 m x 20 m, con un área total de 300 m². Las unidades experimentales tuvieron las medidas de 3.20 m x 4.5 m, con un área de 14.4 m², teniendo un total de 15 unidades experimentales. En cada unidad experimental 60 golpes de semillas fueron sembradas a una distancia de 30 cm entre semillas y 80 cm entre surcos. Se tuvo un total de 20 surcos.

c) Ubicación del campo experimental

Figura 8

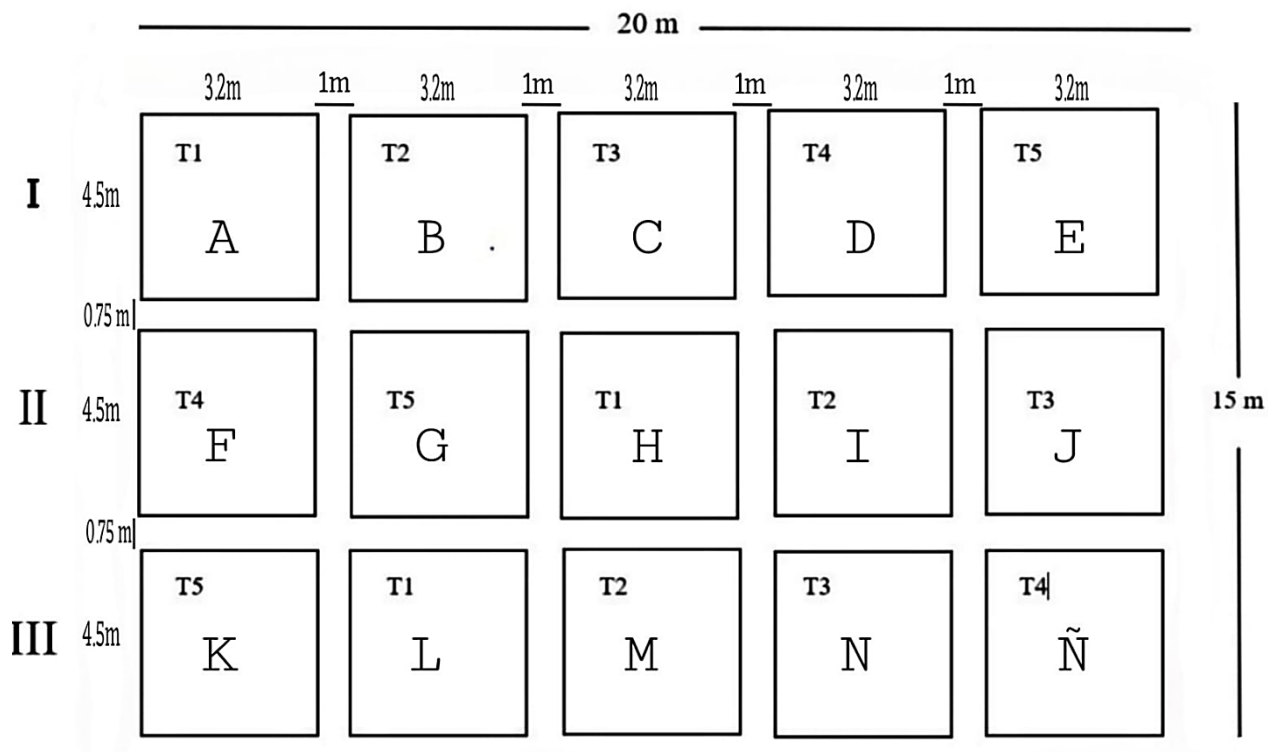
Mapa de ubicación del campo experimental



d) Croquis del campo experimental

Figura 9

Croquis de campo experimental



e) Modelo Lineal

El presente trabajo de investigación se realizó con el diseño experimental de diseño bloques completamente al azar (DBCA), el cual tuvo 5 tratamientos con 3 repeticiones, con su respectivo análisis de varianza (ANVA) y fueron comparados con TUKEY.

El modelo lineal que fue aplicado en el diseño experimental que se planteó fue el siguiente:

$$X_{ij} = u + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

X_{ijk} = Observacion cualquiera

u = Media General del experimento

α_i = Efecto del i – esimo tratamiento

β_φ = Efecto del k – esimo bloque

ε_{ij} = error experimental

5.2.2.1.1 Conducción del experimento en campo

En esta fase se realizó la preparación del campo experimental para el armado de las parcelas de la siguiente manera.

a) Preparación del terreno

El terreno elegido se preparó el 14 de noviembre del año 2022, realizando una remoción de 30 cm a 35 cm de profundidad promedio, la remoción se realizó con ayuda de un tractor agrícola, para que el terreno quede suelto y poder realizar el riego previo de las parcelas para la posterior siembra.

Figura 10

Preparación de terreno con tractor agrícola



b) Trazado de parcelas

El 16 de noviembre del 2022 se trazó las parcelas de siembra con una medida de 3.20 m x 4.5 m cada una, con espacios de 0,75 m entre bloques para calle. Así mismo, para evitar el traslape de los tratamientos se mantuvo una distancia de 1m entre unidades experimentales.

Figura 11

Trazado de parcelas del campo experimental



c) Siembra

La siembra se realizó el 16 de noviembre del 2022, después de previamente haber regado para que el suelo esté en capacidad de campo. Por cada unidad experimental se sembró 60 golpes de semillas a una distancia de 30 cm entre semillas y de 80 cm entre surcos, teniendo un total de 900 golpes en el campo experimental. (Flores, 2017).

Figura 12

Regado por surco y siembra de habas



d) Control de maleza

El desmalezado se realizó en tres ocasiones para así el cultivo pueda desarrollarse correctamente. El primer desmalezado se realizó el 20 de diciembre del 2022, el segundo fue el 27 de enero, el tercero fue el 5 de marzo del 2023.

Figura 13

Primer desmalezado



Figura 14

Segundo desmalezado



Figura 15

Tercer desmalezado



e) Aporque

Se realizó dos aporques, el primero se realizó el 6 de enero del 2023, cuando la planta tuvo una altura mayor a los 10 cm, y el segundo aporque se realizó el 27 de enero de 2023, cuando la planta tuvo una altura mayor a los 30 cm.

Figura 16

Primer aporque del campo experimental



Figura 17

Segundo aporque del campo experimental



f) Aplicación de tratamientos en campo experimental

En esta etapa de estudio se realizó la aplicación de los tratamientos, los cuales fueron los siguientes: Saponina comercial, fungicida Arado, Saponina extraída del lavado de las semillas de quinua variedad Amarillo Marangani (en las concentraciones 1:1 Y 1:5) y agua (tratamiento testigo). Para evaluar la eficiencia de la saponina en el control de la enfermedad *Botrytis fabae* en haba.

Prueba en blanco

La prueba en blanco es un procedimiento que consiste en realizar una prueba con antelación, para que de acuerdo con esta tengamos datos válidos que nos faciliten el conocimiento con respecto a la cantidad de insumos que se aplicaron en el proyecto de investigación.

Este procedimiento se realizó el 13 de enero del 2023 en el campo experimental. Para realizarlo procedimos a llenar con agua la mochila de aspersión (capacidad de 15 litros), después de llenar hasta la capacidad máxima de la mochila se asperjó todo el campo experimental, sin olvidar tomar datos de la cantidad de agua que se estaría utilizando para cada unidad experimental (parcela). Ya con los datos obtenidos se procedió a hacer los respectivos cálculos para la aplicación de los tratamientos.

Preparación de los tratamientos para aplicación foliar en campo

Los tratamientos se aplicaron tres veces, la primera aplicación fue el 16 de enero del 2023, la segunda aplicación fue el 13 de febrero y la tercera aplicación fue el 13 de marzo del 2023. La preparación de los tratamientos fue hecha el mismo día de las tres aplicaciones para

asegurar correcta reacción de todos los tratamientos. Para cada tratamiento se añadió 5 ml de adherente antes de cada aplicación con excepción del tratamiento cinco o tratamiento testigo.

➤ ***Preparación del tratamiento 1***

Para la preparación del tratamiento 1 se utilizó la Saponina comercial, la cual fue adquirida en el local comercial AgrOrgánicos Cusco, se adquirió un litro del producto ya que se vendía a granel. La dosis de aplicación recomendada por los vendedores fue de 200 ml por cada 15 litros de agua. Teniendo en cuenta la prueba en blanco que se realizó con antelación se procedieron a hacer los siguientes cálculos para la aplicación.

$$\begin{array}{r} 200\text{ml} \quad \text{-----} \quad 15\text{l} \\ x \quad \text{-----} \quad 5\text{l} \\ \hline x = 67\text{ml} \end{array}$$

El resultado fue de 67 ml por 5 litros de agua, los cuales fueron mezclados con 5 ml de adherente antes de realizar cada aplicación.

Figura 18

Medición de Adherente y Saponina Comercial para preparación del tratamiento 1



➤ *Preparación del tratamiento 2*

Para la preparación del tratamiento 2 se utilizó el fungicida Arado, el cual es conocido en las Agro veterinarias como uno de los mejores para el control de hongos. La dosis recomendada fue de 40 ml por cada 15 litros de agua.

$$\begin{array}{r} 40\text{ml} \quad \underline{\hspace{2cm}} \quad 15\text{l} \\ x \quad \underline{\hspace{2cm}} \quad 5\text{l} \\ \hline x = 13,3\text{ml} \end{array}$$

El resultado fue de 13,3 ml de fungicida por 5 litros de agua, los cuales fueron mezclados con 5 ml de adherente, antes de realizar cada aplicación.

Figura 19

Medición del Fungicida Arado para preparación del tratamiento 2



➤ *Preparación del tratamiento 3*

Para la preparación del tercer tratamiento se utilizó saponina extraída haciendo el remojo y lavado de las semillas de la quinua variedad Amarillo Marangani, este método es conocido como Método mecánico por lavado o húmedo (Shunta et al., 2021).

La concentración utilizada para este tratamiento fue de 1:1, lo cual quiere decir que por cada kilo de quinua se utilizó un litro de agua.

Figura 20

Materiales para la extracción de saponina por lavado o vía húmeda



○ *Obtención De La Saponina de concentración 1:1*

En un recipiente de plástico se vertió 5 litros de agua, para luego añadir conjuntamente cinco kilos de quinua de la variedad amarillo Marangani. Luego se mezcló ambos componentes se procedió a lavar la quinua durante unos 20 minutos, para así poder obtener la máxima

concentración posible de saponina. Finalmente se hizo el escurrido con ayuda de mallas de tela ultrafinas para luego ser embazadas en botellas de plástico y llevadas a campo.

En campo se mezcló los 5 litros de saponina obtenidos con 5 ml de adherente antes de cada aplicación.

Figura 21

Extracción de saponina por lavado de la quinua variedad Amarillo Marangani



➤ ***Preparación del tratamiento 4***

Para la preparación del cuarto tratamiento también se utilizó saponina extraída de las semillas de la quinua variedad Amarillo Marangani, por su alto contenido de saponina. La concentración utilizada para este tratamiento fue de 1:5, lo cual quiere decir que por cada litro de saponina se utilizó cuatro litros de agua para realizar la mezcla y posterior aplicación.

○ *Obtención De La Saponina de concentración 1:5*

En un recipiente de plástico se vertió un litro de agua, para luego añadir conjuntamente un kilo de quinua de la variedad amarillo Marangani. Luego de mezclar ambos componentes se procedió a lavar la quinua durante unos 20 minutos, para así poder obtener la máxima concentración posible de saponina. Finalmente se hizo el escurrido con ayuda de mallas de tela ultrafinas para luego ser embazada en una botella de plástico y llevada a campo.

Ya en campo se mezcló el litro de saponina obtenido con 4 litros de agua y su respectivo adherente antes de realizar cada aplicación.

Figura 22

Saponina de quinua extraída y envasada por lavado con agua



➤ *Preparación del tratamiento 5*

Para este tratamiento se utilizó únicamente 5 litros de agua, sin ningún tipo de adherente para asegurar que el tratamiento testigo sea lo más preciso posible.

Aplicaciones foliares de los tratamientos en campo

Durante el desarrollo del cultivo se realizó tres aplicaciones foliares con las respectivas dosis de los tratamientos anteriormente mencionados, para ello se utilizó una mochila fumigadora de 15 litros, la cual haciendo respectivos cálculos se pudo adecuar correctamente para la aplicación de los tratamientos. La frecuencia de aplicación fue de una vez por cada mes.

Figura 23

Primera aplicación de los tratamientos en el campo experimental



Figura 24

Segunda aplicación de los tratamientos en el campo experimental



Figura 25

Tercera aplicación de los tratamientos en el campo experimental



g) Cosecha

Se realizó cuando el cultivo llegó a la madurez. La cosecha se realizó el 28 de mayo del 2023. El 12 de junio del 2023 se realizó el pisado y el pesado respectivo del grano para dar por finalizado la toma de datos de campo.

Figura 26

Cosecha de haba variedad Verde Anta



5.2.2.1.2 Parámetros de evaluación

Los parámetros para evaluar fueron:

a) Evaluación de enfermedad

➤ Incidencia

La incidencia de la enfermedad fue registrada una sola vez al finalizar la etapa de floración del cultivo, exactamente el 06 de febrero del 2023.

Para este procedimiento se escogieron 5 golpes al azar por cada unidad experimental, donde cada golpe tenía un promedio de 12 plantas, para evaluar la incidencia se tuvo en cuenta número de golpes que tenían la sintomatología de la enfermedad. Seguidamente para su interpretación se convirtió en porcentaje. La toma de datos se realizó con el objetivo de afirmar la existencia de la enfermedad mancha chocolate en el campo experimental.

➤ *Grado de severidad*

El grado de severidad se evaluó semanalmente después de haber iniciado la primera aplicación de los tratamientos. La toma de datos culminó 11 semanas después de la primera aplicación.

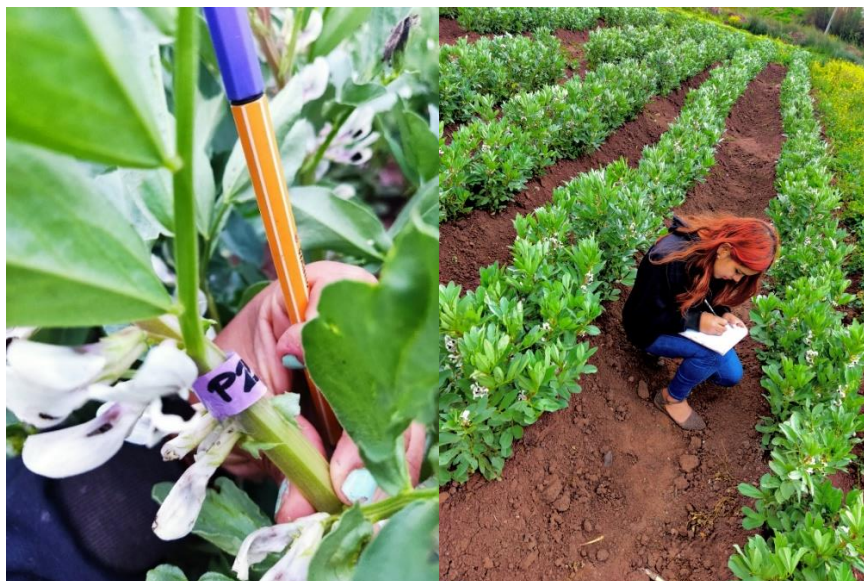
Se evaluaron 5 golpes por unidad experimental (parcela), los cuales fueron marcados y evaluados durante el desarrollo de la enfermedad en la planta, ubicando el grado correspondiente, según (Ministerio del Ambiente, 2014):

- Grado 1= planta sana
- Grado 2 = planta enferma al 10%
- Grado 3 = planta enferma de 11% a 25%
- Grado 4 = planta enferma de 26% a 50%
- Grado 5 = planta enferma mayor al 50%

Para poder clasificar el grado de severidad de acuerdo con los diferentes grados, se evaluaron tallos, hojas, flores, vainas y granos.

Figura 27

Etiquetado de haba por golpes y toma de datos de grado de Severidad



b) Evaluación de variables agronómicas

➤ ***Altura de planta***

Se tomaron 5 golpes al azar por unidad experimental, fueron medidos y evaluados una sola vez al finalizar la etapa de crecimiento, el 20 de abril del 2023, utilizando una cinta métrica, para tomar los datos de la altura de la planta.

Figura 28

Medición de altura de planta



➤ *Número de tallos (floración)*

El número de tallos de cada golpe escogido al azar fueron evaluados una sola vez al finalizar la etapa de floración que fue el 6 de febrero del 2023, este procedimiento consistió en contar el número de tallos que cada golpe seleccionado al azar desarrolló al final de la etapa de floración.

➤ *Número de vainas (maduración)*

El número de vainas fue cuantificado a partir de la etapa de maduración de la planta, este procedimiento consistió en contar el número de vainas que la planta desarrolló en la etapa de maduración en adelante. Para este procedimiento también se seleccionó 5 golpes al azar por cada parcela. Este procedimiento se realizó una sola vez, el 20 de abril del 2023.

➤ *Rendimiento (cosecha)*

La evaluación del rendimiento tuvo lugar el 12 de junio del 2023, este procedimiento consistió en el pesado del grano en seco por lo que se tuvo que esperar que el grano este seco para luego pisar, pelar y finalmente pesar el grano en seco.

Figura 29

Pisado y pelado de haba variedad Verde Anta



Todas las variables fueron evaluadas para constatar la eficiencia de cada tratamiento que fue aplicado en tres ocasiones durante el ciclo fenológico del cultivo.

El peso total de toda la cosecha del campo experimental fue de 133.75 kl o 0.13375 toneladas.

Para calcular el rendimiento por Ha, se divide el peso total convertido a Tn entre los m² de terreno convertidos en Ha (IndiKit).

Para calcular nuestro rendimiento se dividió las 0.13375 Tn entre 0.03 Ha de medida del campo experimental. El rendimiento fue de 4.46 t/ha el cual indica que este rendimiento se encuentra dentro de los parámetros aceptados en cultivo de haba en seco (INIA).

5.2.2.2 Metodología realizada en laboratorio

a) Diseño Experimental

El diseño experimental que se utilizó para la aplicación en laboratorio fue el diseño completamente al azar (DCA) con 5 tratamientos y 4 repeticiones.

Los tratamientos aplicados en laboratorio fueron los siguientes:

- Tratamiento 1: Saponina Comercial de la empresa AgrOrgánicos
- Tratamiento 2: Fungicida Arado
- Tratamiento 3: Saponina a la concentración 1:1
- Tratamiento 4: Saponina a la concentración 1:5
- Tratamiento 5 o tratamiento testigo: PDA

b) Características de la unidad experimental

A nivel de laboratorio las unidades experimentales fueron placas Petri conteniendo el medio de cultivo, Papa Dextrosa Agar (PDA) donde en cada una de ellas se evaluó el desarrollo del hongo *Botrytis fabae* en los tratamientos respectivos.

c) Modelo Lineal

Se aplicó el diseño experimental completamente al azar (DCA) con 5 tratamientos y 4 repeticiones. Con su análisis de varianza respectivo (ANVA) y se comparó con DUNCAN.

Además, se utilizó el modelo lineal Probit para encontrar las tendencias y/o valores de concentraciones de saponina de la quinua que permite inhibir el desarrollo de *Botrytis fabae*.

Padilla (2020) señala que en el modelo Probit, la probabilidad de éxito se evalúa en la función $G(z)=\Phi(z)$ donde:

$$P(y = 1|x) = \Phi(\beta_0 + \beta_1x_1 + \dots + \beta_kx_k)$$

$$\Phi(z) = \int_{-\infty}^z \left(\frac{1}{2\pi}\right)^{1/2} \exp\left\{\frac{-u^2}{2}\right\} du$$

Esta es la función de distribución acumulada normal estándar (Padilla, 2020).

5.2.2.2.1 Conducción del experimento en laboratorio

a) Recolección e identificación del hongo en campo

Se identificó la sintomatología de mancha chocolate en hojas y tallos de haba de la variedad Verde Anta de 2 meses y medio de desarrollo, antes del inicio de la etapa de floración.

Figura 30

Identificación de sintomatología de Botrytis fabae en hojas de haba de la variedad Verde Anta



Se colectaron muestras de hojas y tallo que presentaban daño a causa de *Botrytis fabae* en envases de plástico totalmente desinfectados con alcohol, para su posterior análisis, aislamiento e identificación en el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSAAC.

b) Aislamiento del hongo

Las muestras de hojas recolectadas se llevaron al laboratorio Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSAAC, para realizar el siguiente trabajo:

c) Siembra en medio cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA)

El medio de cultivo usado para el aislamiento del hongo fitopatógeno *Botrytis fabae* fue Papa dextrosa Agar (PDA).

➤ *Preparación del medio de cultivo*

La preparación del Agar PDA fue utilizada para propagar el hongo para la posterior ejecución de los exámenes macroscópicos y microscópicos. Para este procedimiento se prepararon 10 placas de Agar PDA se utilizó 75 g de papa previamente pelada y picada en cuadros, luego se sometió a cocción por 20 minutos en alta presión en 250 mililitros de agua destilada estéril. El líquido obtenido fue vertido en un recipiente transparente, no sin antes realizar el filtrado usando una gaza estéril, la cual permitió la utilización de la parte cristalina en la preparación del medio (Coronel, 2022)

Seguidamente se empleó el agua que resultó del hervor de las papas, para luego mezclarlo con 5 gramos de Glucosa (Dextrosa) para proporcionar un desarrollo más eficiente del hongo. Luego procedimos a añadir 5 gramos de Agar-agar, previamente Pesado, para luego

esterilizar en autoclave a 121° C por 15 minutos, la temperatura y el tiempo que se utilizó en la esterilización en autoclave garantizó la esterilidad del medio (Gamboa, 2008).

Terminando el proceso de esterilización mediante autoclave, se procedió a verter el medio de cultivo PDA en placas estériles para dejar gelificar a temperatura ambiente durante 30 minutos.

Luego de que el Agar culminó de gelificar a temperatura ambiente, se procedió a la preparación del material vegetal para el sembrado correspondiente.

➤ ***Preparación del material vegetal***

Una vez que el material vegetal fue recolectado y llevado a laboratorio, se cortaron trozos de 0.5 cm² para sembrar con la ayuda de un Bisturí previamente desinfectado. Los cortes fueron realizados en la parte de las hojas donde el hongo se encontró más activo y de acuerdo con la sintomatología, para así observar la actividad del hongo (Flores, 2017).

Figura 31

Preparación de los cortes de hojas infectadas por *B. fabae* para posterior desinfección



➤ ***Preparación de Hipoclorito de Sodio al 2%***

Para la obtención de Hipoclorito de Sodio al 2%, se utilizó la lejía comercial Clorox, la cual tiene 4% de concentración de este, entonces para poder calcular y obtener Hipoclorito al 2% se usó la siguiente fórmula:

$$c_1v_1 = c_2v_2$$

Donde:

$$c_1 = \text{Concentración 1}$$

$$v_1 = \text{Volumen 1}$$

$$c_2 = \text{Concentración 2}$$

$$v_2 = \text{Volumen 2}$$

Haciendo los cálculos correspondientes se obtuvo que por cada 100 ml de Sodio se le agregara 100 ml de agua para así obtener Hipoclorito de Sodio al 2%.

➤ ***Desinfección del material vegetal***

Las hojas fueron remojadas en hipoclorito de Sodio al 2% durante 3 minutos para desinfección correspondiente de la superficie del tejido infectado, seguidamente se enjuagó las muestras con agua destilada estéril durante 2 minutos (Flores, 2017).

Se realizaron múltiples pruebas piloto, para garantizar una buena desinfección del material vegetal.

Figura 32

Materiales para desinfección del material vegetal



➤ ***Siembra***

Luego de la desinfección de las muestras se realizó el sembrado en el medio de cultivo, el cual consistió en esterilizar el lugar de trabajo con la ayuda de un mechero Bunsen y con la ayuda de una pinza quirúrgica previamente esterilizada se procedió a tomar cada muestra y colocarla en cuatro partes del medio gelificado PDA dentro de cada una de las placas Petri, para seguidamente dejarlos a temperatura ambiente durante una semana para observar su desarrollo.

Figura 33

Siembra de material vegetal y rotulado de placas petri



d) Examen macroscópico en placa

Cuando se observó que el micelio del hongo creció desde su punto de origen se procedió a observar de manera macroscópica el anverso y reverso de las placas Petri de la siguiente manera:

- Anverso: Aspecto del frente hifal: Belloso, seco, algodonoso, etc.

Formación de macroestructura sexuales

Color: De la especie fúngica

- Reverso: Aspecto del frente hifal: Rugoso, liso

Pigmento: Presente, no presente

Figura 34

Desarrollo micelial de *Botrytis fabae* al tercer día



Cuando se pudo constatar que las características macroscópicas corresponden a *Botrytis fabae* se procedió a hacer el trasplante de forma individual en placas Petri con medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) fresco, cuyo procedimiento fue el siguiente:

➤ ***Procedimiento de propagación por sacabocado***

Primeramente, con la ayuda de sacabocados previamente esterilizados, se procedió a hacer perforaciones en los medios en donde el hongo tuvo mayor desarrollo. Como indica el Manual de Aislamiento de Hongos Fitopatógenos IIFB, con unas pinzas se tomaron las porciones perforadas (discos) y se colocaron en el centro de cada medio de cultivo (Cañedo, 2004). Cabe resaltar que los discos fueron sembrados con la parte anversa en la parte basal del nuevo medio de cultivo (Gómez Ramírez et al., 2013).

Figura 35

Propagación de *Botrytis fabae* por procedimiento de sacabocado



Finalmente, cuando se observó que los hongos continuaron creciendo sin la contaminación de otros hongos se procedió a realizar el examen microscópico.

e) Examen microscópico por tinción con azul de lactofenol

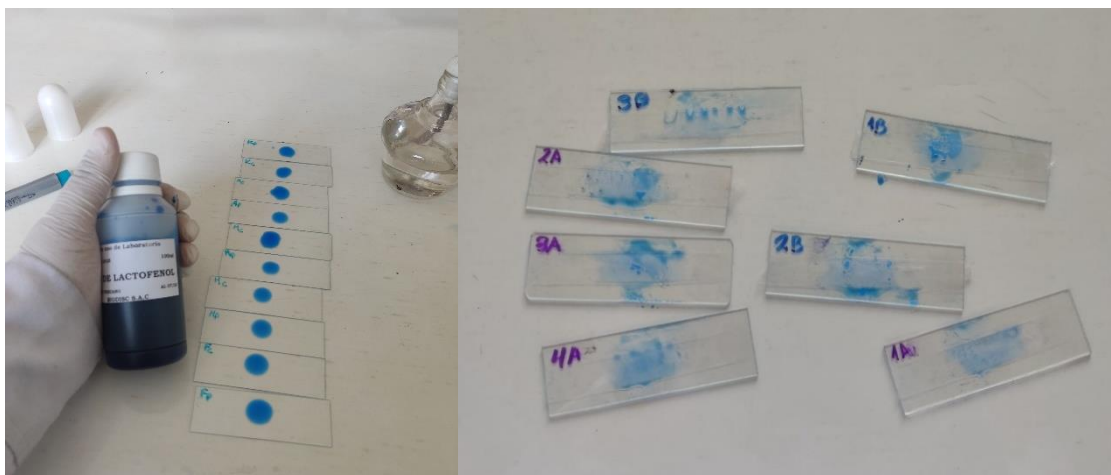
Transcurrido los 7 días del trasplante de los discos se realizó el examen microscópico por tinción utilizando Azul de Lactofenol, el procedimiento realizado fue el siguiente:

➤ ***Procedimiento***

Se colocó una gota azul de Lactofenol sobre un portaobjetos con la ayuda de una pipeta de plástico. Seguidamente se colocó un trozo de cinta Scotch o cinta adhesiva transparente cuidadosamente sobre la superficie de la colonia del hongo en desarrollo, luego esta cinta que contenía el micelio a los 7 días fue adherida sobre la gota colocada sobre un portaobjetos (Flores, 2017).

Figura 36

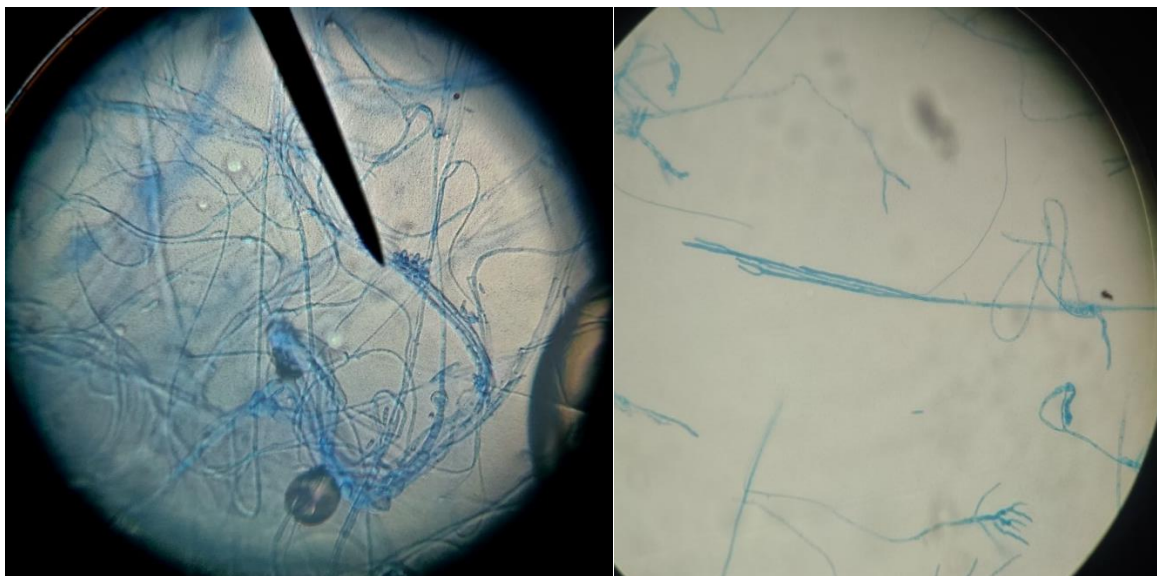
Tinción del Hongo *Botrytis fabae* con Azul de Lactofenol



Finalmente, dichos portaobjetos que contenían muestras de micelio fueron llevados al microscopio para una observación más detallada. Cabe destacar que utilizamos primero el aumento 10x para detectar la estructura y ordenamiento característico de las esporas y posteriormente se utilizó el aumento de 40x para una observación más rigurosa.

Figura 37

Conidios y conidióforos de *Botrytis fabae*



A través del examen microscópico se logró diferenciar *Botrytis fabae* de *Botrytis cinerea*, ya que ambos hongos comparten múltiples similitudes en morfología, se tomó en consideración las afirmaciones de (Ellis, 1971) los cuales indican que *Botrytis fabae* presenta alta cantidad de septas en la parte terminal de los conidióforos, este carácter morfológico es clave para diferenciarlo de *Botrytis Cinerea*.

Botrytis fabae produce conidióforos ramificados sobre los que se forman conidios unicelulares. Los conidios miden de 16 a 25 x 13 a 16 μm (Ellis, 1971). *Botrytis cinerea*, que también está presente en el cultivo de haba, posee conidios significativamente más pequeños, de 8 a 14 x 6 a 9 μm . *Botrytis fabae* produce esclerocios pequeños con un diámetro de 1 a 1,7 mm (Ellis, 1971)

Al finalizar el examen microscópico y lograr constatar que efectivamente sí es el hongo *Botrytis fabae*, se continuó realizando la propagación del hongo a nuevos medios de cultivo. Para asegurar el correcto desarrollo del hongo para poder realizar el enfrentamiento.

f) Enfrentamiento de Botrytis con saponina in vitro

La presente metodología se realizó el 25 de enero del 2024, consistió en preparar placas Petri conteniendo el medio de cultivo PDA con los diferentes tratamientos:

- Tratamiento 1: Saponina Comercial de la empresa AgrOrgánicos
- Tratamiento 2: Fungicida Arado de la empresa Bioagro
- Tratamiento 3: Saponina a la concentración 1:1
- Tratamiento 4: Saponina a la concentración 1:5
- Tratamiento 5 o tratamiento testigo: PDA

En donde fue sembrado el hongo *Botrytis fabae*, el cual fue previamente identificado mediante el examen macroscópico y microscópico. Seguidamente el hongo fue sometido al enfrentamiento con cada uno de los tratamientos para finalmente comprobar la eficiencia de la saponina para el control del crecimiento del hongo.

El número total de placas que se utilizaron para el enfrentamiento fueron 20 placas, por los 5 tratamientos y 4 repeticiones. A continuación, se explica la metodología:

➤ ***Preparación del Agar PDA para enfrentamiento***

Para la preparación del Agar PDA se utilizó 300 g de papa previamente pelada, picada en cuadros, luego se sometió a cocción por 20 minutos en alta presión en 500 mililitros de agua destilada. El líquido obtenido fue vertido en un vaso de precipitados, no sin antes realizar el filtrado usando una gaza estéril.

Figura 38

Materiales para la preparación de Agar Papa Dextrosa Agar



Figura 39

Cocción de papas en cocina eléctrica para preparación de Agar Papa Dextrosa Agar



Seguidamente se utilizó el agua que resultó del hervor de las papas, para luego mezclarlo con 10 gramos de Glucosa (Dextrosa) para proporcionar un desarrollo más eficiente del hongo. Luego se añadió 10 gramos de Agar-agar.

Figura 40

Pesado en balanza analítica de Dextrosa y Agar – Agar



Sin embargo, cada tratamiento tuvo una preparación diferente y los procedimientos fueron detallados a continuación:

➤ ***Preparación del tratamiento 1 (saponina comercial + Agar PDA)***

Se separó 100 ml de Agar PDA en un matraz de 250 ml para realizar el proceso de esterilización en autoclave a 121°C por 15 minutos. Mientras la esterilización se procedió a esterilizar la saponina comercial con la ayuda de filtros de 0.22 micrómetros, los cuales también fueron esterilizados en Autoclave, para asegurar la esterilidad del medio.

Figura 41

Esterilización con filtro de 0.22 micrómetros de Saponina comercial



Seguidamente se retiró el matraz que contiene el Agar PDA ya esterilizado para dejarlo enfriar. Se realizaron los cálculos respectivos y se procedió a medir 1300 microlitros de saponina comercial con la ayuda de una micropipeta y un tip previamente esterilizado.

Se añadió directamente los 1300 microlitros ó 1.3 ml de saponina en 100 ml de Agar PDA y se mezcló. Finalmente se realizó el plaqueado del tratamiento 1 en placas Petri y luego se esperó a gelificar.

➤ ***Preparación del tratamiento 2 (Fungicida Arado + Agar PDA)***

Se separó 100 ml de Agar PDA en un matraz de 250 ml para realizar el proceso de esterilización en autoclave a 121°C por 15 minutos. Seguidamente retiramos el matraz que contiene el Agar PDA ya esterilizado para dejarlo enfriar. Cabe resaltar que para este tratamiento no fue necesario esterilizar el fungicida ya que estaba completamente nuevo y sellado.

Se realizó los cálculos respectivos para la aplicación y se procedió a extraer cuidadosamente 260 microlitros de Fungicida Arado con la ayuda de una micropipeta y tip previamente autoclavado, siempre usando el mechero bunsen para asegurar la esterilidad del lugar en el que se realizó la extracción. Seguidamente se añadió directamente los 260 microlitros o 0.26 ml de fungicida Arado al Agar PDA y se mezcló con el medio. Finalmente se realizó el plaqueado del tratamiento 2 en placas Petri y luego se esperó a gelificar.

➤ ***Preparación del tratamiento 3 (Saponina con concentración 1:1 + Agar PDA)***

Se preparó en dos fases, la primera fue la preparación del extracto y la segunda la preparación y mezcla con el Agar PDA.

○ ***Extracción de saponina para tratamiento 3***

Se adquirió medio kilo de semillas de quinua de la variedad Amarillo Marangani. Luego el medio kilo de quinua fue depositado en un recipiente de plástico (lavador) con medio litro de agua para la realización del lavado respectivo. El lavado se realizó durante unos 10 minutos aproximada y solamente se realizó una vez y finalmente se escurrió, se filtró y el extracto obtenido fue embotellado para posteriormente ser llevado a laboratorio.

○ ***Mezcla con el Agar***

Se colocó 100 ml de Agar PDA en un matraz y posteriormente se añadió los 100 ml de extracto de saponina, se integró correctamente ambas soluciones para preparar su esterilización en autoclave. Las saponinas soportan temperaturas superiores a 150 °C e inferiores a 400 °C (Ahumada et al., 2016).

Con el respaldo de este antecedente se realizó la esterilización del medio con la saponina ya disuelta en el mismo.

Figura 42

Saponina mezclada con Agar para la esterilización en autoclave



La mezcla ya integrada fue empaquetada y llevada a autoclavar a 121°C durante 15 minutos. Luego se retiró el matraz que contuvo el medio ya esterilizado para dejarlo enfriar. Finalmente se realizó el plaqueado del tratamiento 3 en placas Petri y luego se esperó a gelificar.

➤ ***Preparación del tratamiento 4 (Saponina con concentración 1:5 + Agar PDA)***

○ ***Extracción de saponina para tratamiento 4***

Se adquirió 250 gr de semillas de quinua de la variedad Amarillo Marangani Luego los 250 gr de quinua fue depositada en un recipiente de plástico (lavador) con 250 mililitros de agua. Se realizó el lavado de quinua durante unos 10 minutos aproximadamente, el lavado solamente se realizó una vez. Finalmente se escurrió, se filtró y el extracto obtenido también fue embotellado para posteriormente ser llevado a laboratorio.

- *Mezcla con el Agar*

Se colocó 100 ml de Agar PDA en un matraz y posteriormente se añadió los 25 ml de extracto de saponina, ya que la concentración es de 1:5, luego se integró correctamente ambas soluciones para preparar su empaquetado y esterilización en autoclave.

Figura 43

Saponina mezclada con Agar después de la esterilización en autoclave



La mezcla ya integrada fue llevada a autoclavar a 121°C durante 15 minutos. Seguidamente se retiró el matraz que contuvo el medio ya esterilizado para dejarlo enfriar y finalmente se realizó el plaqueado del cuarto tratamiento en placas Petri y se dejó a gelificar.

➤ ***Preparación del tratamiento 5 (tratamiento testigo)***

Se separó 100 ml de Agar PDA previamente preparado en un matraz de 250 ml para realizar el proceso de esterilización en autoclave a 121°C por 15 minutos. Retiramos el matraz que contiene el Agar PDA ya esterilizado para dejarlo enfriar y se realizó el plaqueado del tratamiento testigo en placas Petri y luego se esperó a gelificar.

Inoculación del hongo *Botrytis fabae* en los medios in vitro con los tratamientos.

En las placas Petri, con el medio de cultivo Agar PDA y los tratamientos previamente preparados, se realizó el procedimiento de siembra en laboratorio con el método de Sacabocado ya mencionado con anterioridad, este procedimiento se realizó con el área de trabajo ya desinfectado y estéril por medio del mechero bunsen,

Con la ayuda de tubos de ensayo previamente esterilizados en autoclave, se procedió a hacer perforaciones en los medios en donde el hongo *Botrytis fabae* fue propagado con anterioridad el 16 de enero del 2024, los medios elegidos fueron los que mostraron mayor desarrollo del hongo, ya que el hongo ya llevaba 9 días de haber sido sembrado en un nuevo medio de cultivo. Seguidamente con una pinza se retiraron las porciones perforadas (discos) y se colocaron en el centro de cada medio de cultivo de forma inversa (desarrollo hifal del hongo tocando la superficie del medio).

Figura 44

Tubos de ensayo estériles para procedimiento de siembra del hongo por sacabocado



Las cajas Petri fueron conservadas en una incubadora bajo condiciones ideales para su desarrollo (20°C) para luego realizar la medición del crecimiento del patógeno, para esto se midió el diámetro de desarrollo en días específicos, durante 10 días de realizada la inoculación (Flores, 2017). De esa manera la eficiencia de control de cada tratamiento realizado fue comparada.

Figura 45

Incubadora con las placas Petri ordenadas según los tratamientos



Figura 46

Incubadora del Laboratorio Biotecnológico de la facultad de Ciencias



5.2.2.2.2 Parámetros de evaluación en laboratorio

Las variables de respuesta determinadas fueron las siguientes:

a) Porcentaje de inhibición micelial (PICM)

Para evaluar el Porcentaje de Inhibición del crecimiento Micelial (PICM) del hongo *Botrytis fabae* se realizaron tres evaluaciones del diámetro del crecimiento radial del hongo, la primera se evaluó el 29 de enero del 2024, a los 4 días de haber establecido la siembra. La segunda medición fue el 01 de febrero del 2024, transcurridos 7 días de la siembra. La tercera medición fue el 04 de febrero del 2024, a los 10 días de haber realizado la siembra. Para realizar la medición respectiva se utilizó un calibrador de vernier digital.

La fórmula que se usó para hallar el porcentaje de crecimiento del hongo fue la siguiente:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(\text{Diametro en HDA sin saponina} - \text{Diametro en HDA con saponina})}{\text{Diametro en PDA sin saponina}} \times 100$$

Fuente: (Salazar, 2012)

b) Porcentaje de crecimiento del hongo

Para evaluar el porcentaje de Crecimiento del hongo *Botrytis fabae* fue tomado en consideración que la inhibición es el inverso del crecimiento, y se calculó de la siguiente manera:

$$\% \text{ de crecimiento del hongo} = 100 - \% \text{ de inhibición}$$

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1 Parámetros evaluados en campo

6.1.1 Evaluación de enfermedad

6.1.1.1 Incidencia

Se escogieron 5 golpes al azar por cada unidad experimental, es decir, por cada tratamiento se tomaron 15 golpes al azar, de los cuales se contabilizó la cantidad de golpes que sí presentaban la enfermedad. Los números del cuadro 03 representan la cantidad total de golpes que presentaron la sintomatología de mancha chocolate por cada unidad experimental.

Cuadro 03: Cuadro ordenado de resultados de evaluación de incidencia de Botrytis en plantas

(Datos originales, cuadro N° 11 del anexo 01)

REPETICIONES	TRATAMIENTOS				
	T1	T2	T3	T4	T5
R1	5	5	5	5	5
R2	5	3	5	5	5
R3	5	4	4	5	5
∑T	15	12	14	15	15
Porcentaje	100%	80%	93.33%	100%	100%

Luego de realizar la sumatoria total de golpes infectados por cada tratamiento se procedió a convertir en porcentaje.

$$\text{Incidencia} = (\text{Número de plantas enfermas} / \text{Número total de plantas}) \times 100\%$$

Análisis de varianza

Tabla 02

Análisis de Varianza para incidencia - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFECTOS PRINCIPALES					
A: TRATAMIENTOS	0.453333	4	0.113333	2.39	0.0594
B: BLOQUE	0.106667	2	0.053333	1.12	0.3309
RESIDUOS	3.22667	68	0.047451		
TOTAL (CORREGIDO)	3.78667	74			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El ANOVA no detectó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para la incidencia (P=0.0594). Sin embargo, el valor P está cerca del nivel de significancia de 0.05, lo que indica que podría haber alguna diferencia leve entre los tratamientos.

Prueba Tukey

Tabla 03

Pruebas de Múltiple Rangos para incidencia por tratamientos

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamientos</i>	<i>Casos</i>	<i>Media Ls</i>	<i>Sigma Ls</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Saponina 1:5	15	0.8	0.0562441	A
Saponina 1:1	15	0.933333	0.0562441	A
Fungicida	15	1.0	0.0562441	A
Saponina com.	15	1.0	0.0562441	A
Testigo	15	1.0	0.0562441	A

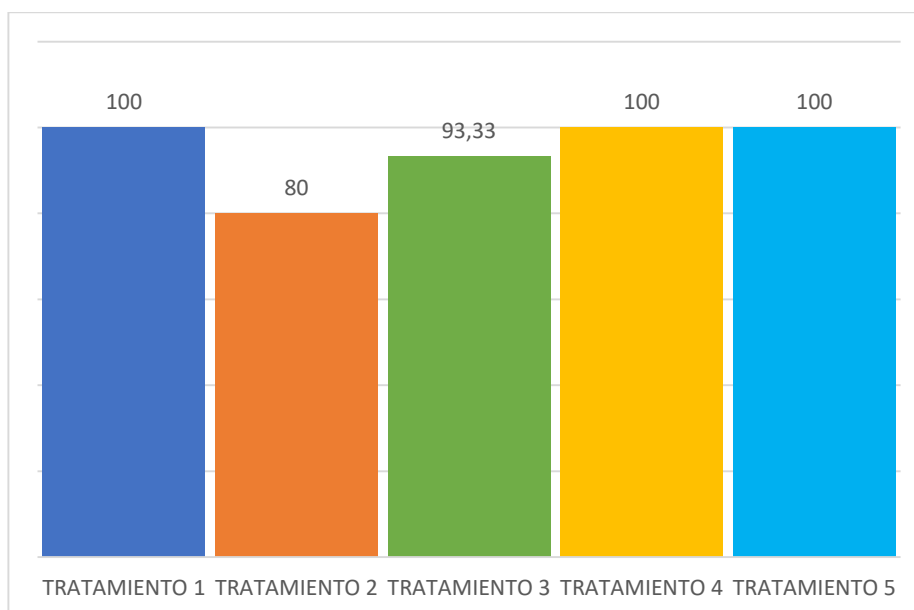
La columna Media LS representa los promedios para incidencia por tratamientos.

Tabla 04**Contraste para porcentaje de incidencia por tratamientos en campo**

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Fungicida - Saponina 1:1	0.0666667		0.2229
Fungicida - Saponina 1:5	0.2		0.2229
Fungicida - Saponina com.	0		0.2229
Fungicida - Testigo	0		0.2229
Saponina 1:1 - Saponina 1:5	0.133333		0.2229
Saponina 1:1 - Saponina com.	-0.0666667		0.2229
Saponina 1:1 - Testigo	-0.0666667		0.2229
Saponina 1:5 - Saponina com.	-0.2		0.2229
Saponina 1:5 - Testigo	-0.2		0.2229
Saponina com. - Testigo	0		0.2229

* indica una diferencia significativa.

La prueba de Tukey no encontró diferencias significativas entre los tratamientos, agrupándolos todos en un mismo grupo homogéneo (A). Esto confirma que, según esta prueba, no hay evidencia de diferencias en la incidencia entre los tratamientos evaluados.

Figura 47**Porcentaje de incidencia**

6.1.1.2 Grado de severidad

Para la evaluación de grados de severidad se seleccionó 5 golpes al azar por cada unidad experimental, estos golpes fueron marcados para ser evaluados semanalmente. La última semana de evaluación fue la semana 11. En el cuadro 04 se observa el grado de severidad de cada golpe seleccionado por cada unidad experimental en la semana 11.

Cuadro 04: Cuadro Ordenado de resultados de grado de severidad para la semana 11

(Datos originales, cuadro N°12 del Anexo 02)

REPETICIONES	TRATAMIENTOS				
	T1	T2	T3	T4	T5
R1	1	1	1	2	2
	2	2	2	1	4
	1	1	2	2	3
	2	2	1	2	4
	2	2	2	2	3
R2	2	1	2	3	2
	1	1	2	3	3
	2	2	3	3	2
	2	2	2	3	3
	2	2	3	2	3
R3	2	2	4	4	4
	2	2	1	3	3
	3	1	2	2	3
	2	2	2	2	4
	2	2	3	2	4
ΣT	28	25	32	36	47
	1.86	1.66	2.13	2.4	3.13

- Grado 1= planta sana
- Grado 2 = planta enferma al 10%
- Grado 3 = planta enferma de 11% a 25%
- Grado 4 = planta enferma de 26% a 50%
- Grado 5 = planta enferma mayor al 50%

Análisis de varianza para severidad semana 11

Tabla 05

Análisis de Varianza para grado de severidad semana 11 - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: TRATAMIENTOS	11.8133	4	2.95333	5.59	0.0006
B: BLOQUE	3.92	2	1.96	3.71	0.0296
RESIDUOS	35.9467	68	0.528627		
TOTAL (CORREGIDO)	51.68	74			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Prueba Tukey

Tabla 06

Pruebas de Múltiple Rangos para severidad semana 11 por tratamientos

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamientos</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Saponina 1:1	15	1.73333	0.187728	A
Saponina 1:5	15	1.93333	0.187728	AB
Fungicida	15	2.13333	0.187728	ABC
Saponina com.	15	2.66667	0.187728	BC
Testigo	15	2.73333	0.187728	C

La columna Media LS representa los promedios para severidad semana 11 por tratamiento.

Tabla 07**Contraste para grado de severidad Semana 11 por tratamientos**

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Fungicida - Saponina 1:1		0.4	0.743981
Fungicida - Saponina 1:5		0.2	0.743981
Fungicida - Saponina com.		-0.533333	0.743981
Fungicida - Testigo		-0.6	0.743981
Saponina 1:1 - Saponina 1:5		-0.2	0.743981
Saponina 1:1 - Saponina com.	*	-0.933333	0.743981
Saponina 1:1 - Testigo	*	-1.0	0.743981
Saponina 1:5 - Saponina com.		-0.733333	0.743981
Saponina 1:5 - Testigo	*	-0.8	0.743981
Saponina com. - Testigo		-0.0666667	0.743981

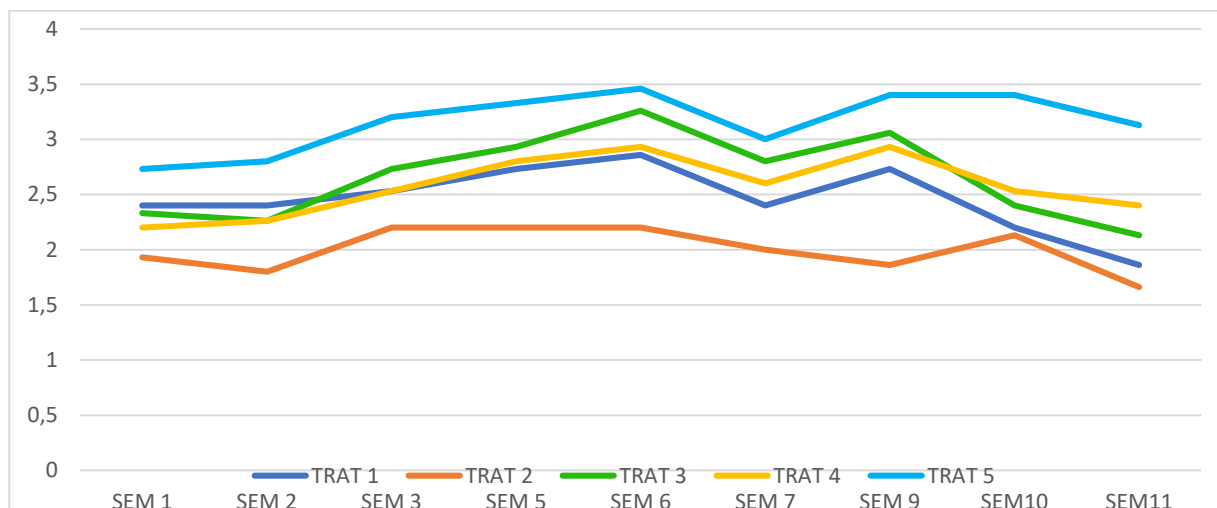
* indica una diferencia significativa.

El ANOVA muestra diferencias altamente significativas tanto entre tratamientos ($p=0.0006$) como entre bloques ($p=0.0296$).

Tukey separa tres grupos: Testigo (2,73) con la mayor gravedad; seguido de Saponina Comercial (2.67) sin diferir del Testigo; y Saponina 1:1 (1.73) con la menor severidad. Fungicida y Saponina 1:5 ocupan posiciones intermedias sin diferir de los grupos extremos.

Figura 48**Grado de severidad de cada tratamiento por semana**

(Datos originales, cuadro N°12 del Anexo 02)



6.1.2 Variables agronómicas

6.1.2.1 Altura de la planta en metros

Cuadro 05: Cuadro ordenado de resultados de altura de planta en metros

REPETICIONES	TRATAMIENTOS				
	T1	T2	T3	T4	T5
R1	1.3	1.26	1.19	1.21	1.17
	1.28	1.57	1.28	1.49	1.12
	1.46	1.37	1.45	1.24	1.48
	1.14	1.53	1.41	1.48	1.56
	1.56	1.47	1.25	1.36	1.2
R2	1.29	1.32	1.33	1.19	1.48
	1.31	1.37	1.38	1.18	1.5
	1.38	1.59	1.39	1.27	1.44
	1.34	1.27	1.35	1.21	1.47
	1.46	1.48	1.19	1.33	1.52
R3	1.4	1.17	1.19	1.26	1.16
	1.39	1.16	1.53	1.32	1.29
	1.31	1.23	1.45	1.35	1.22
	1.38	1.2	1.24	1.39	1.25
	1.12	1.16	1.18	1.33	1.3
ΣT	20.12	20.15	19.81	19.61	20.16
\bar{x}	1.34	1.34	1.32	1.31	1.34

Análisis de varianza para altura de planta

Tabla 08

Análisis de Varianza para altura de planta en metros - Suma de Cuadrados Tipo III

	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamiento	0.0164133	4	0.00410333	0.27	0.8987
B:BLOQUE	0.102803	2	0.0514013	3.34	0.0415
RESIDUOS	1.04805	68	0.0154125		
TOTAL (CORREGIDO)	1.16727	74			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El valor-P para el tratamiento (0.8987) es mucho mayor que 0.05, lo que indica que no hay diferencias significativas en la altura de las plantas entre los tratamientos.

El valor-P para los bloques (0.0415) es menor que 0.05, lo que indica que hay diferencias significativas entre los bloques, posiblemente debido a variaciones en el entorno experimental.

Prueba Tukey

Tabla 09

Pruebas de Múltiple Rangos para altura de planta en metros por tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Saponina 1:5	15	1.30733	0.0320547	A
Saponina 1:1	15	1.32067	0.0320547	A
Saponina com	15	1.34133	0.0320547	A
fungicida	15	1.34333	0.0320547	A
Testigo	15	1.344	0.0320547	A

Todos los tratamientos (Saponina 1:5, Saponina 1:1, Saponina comercial, Fungicida, Testigo) pertenecen al mismo grupo homogéneo "A", lo que refuerza la conclusión de que no hay diferencias significativas en la altura de las plantas entre los tratamientos.

Tabla 10

Contraste para altura de planta en metros por tratamiento

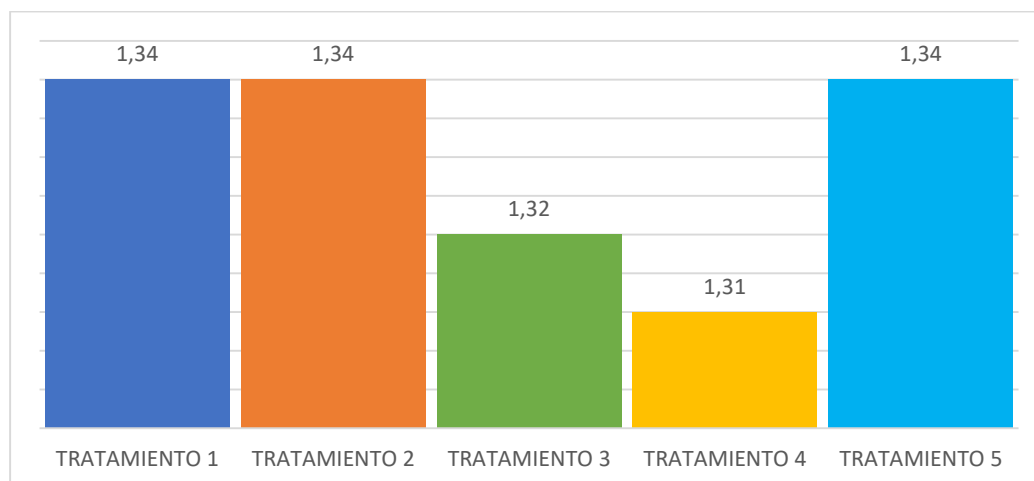
<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Saponina 1:1 - Saponina 1:5	0.0133333	0.127035	0.127035
Saponina 1:1 - Saponina de la	-0.0206667	0.127035	0.127035
Saponina 1:1 - Testigo	-0.0233333	0.127035	0.127035
Saponina 1:1 - fungicida	-0.0226667	0.127035	0.127035
Saponina 1:5 - Saponina de la	-0.034	0.127035	0.127035
Saponina 1:5 - Testigo	-0.0366667	0.127035	0.127035
Saponina 1:5 - fungicida	-0.036	0.127035	0.127035
Saponina de la - Testigo	-0.00266667	0.127035	0.127035
Saponina de la - fungicida	-0.002	0.127035	0.127035
Testigo - fungicida	0.000666667	0.127035	0.127035

* indica una diferencia significativa.

Las aplicaciones de saponinas y fungicida no tuvieron un impacto significativo en la altura de las plantas de haba en comparación con el testigo sin aplicación en este ensayo.

Figura 49

Altura promedio de plantas en metros



6.1.2.2 Número de tallos por golpe

Cuadro 06: Cuadro ordenado de resultados de número de tallos por golpe

REPETICIONES	TRATAMIENTOS				
	T1	T2	T3	T4	T5
R1	15	14	14	13	13
	16	14	19	13	12
	12	13	16	9	10
	9	17	13	12	10
	18	16	9	14	11
R2	16	14	12	12	13
	12	12	13	8	14
	10	13	11	10	15
	14	16	21	16	15
	10	13	10	8	12
R3	11	16	8	11	10
	10	10	10	10	8
	7	12	16	12	12
	11	12	13	13	15
	12	12	9	9	17
ΣT	183.00	204.00	194.00	170.00	187.00
\bar{x}	12.20	13.60	12.93	11.33	12.47

Análisis de Varianza para número de tallos

Tabla 11

Análisis de Varianza para nro. tallos por golpe - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: tratamientos	42.7467	4	10.6867	1.47	0.2210
B: BLOQUE	45.5467	2	22.7733	3.13	0.0500
RESIDUOS	494.453	68	7.27137		
TOTAL (CORREGIDO)	582.747	74			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El valor-P para el tratamiento (0.2210) es mayor que 0.05, indicando que no hay diferencias significativas en el número de tallos por golpe entre los tratamientos.

El valor-P para los bloques (0.0500) es igual a 0.05, lo que sugiere que puede haber una ligera diferencia significativa entre los bloques.

Prueba de Tukey

Tabla 12

Pruebas de Múltiple Rangos para nro. tallos por golpe por tratamientos

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamientos</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Saponina 1:5	15	11.3333	0.696246	A
Saponina de la	15	12.2	0.696246	A
Testigo	15	12.4667	0.696246	A
Saponina 1:1	15	12.9333	0.696246	A
Fungicida	15	13.6	0.696246	A

Todos los tratamientos pertenecen al mismo grupo homogéneo "A", lo que indica que no hay diferencias significativas en el número de tallos por golpe entre los diferentes tratamientos.

Tabla 13

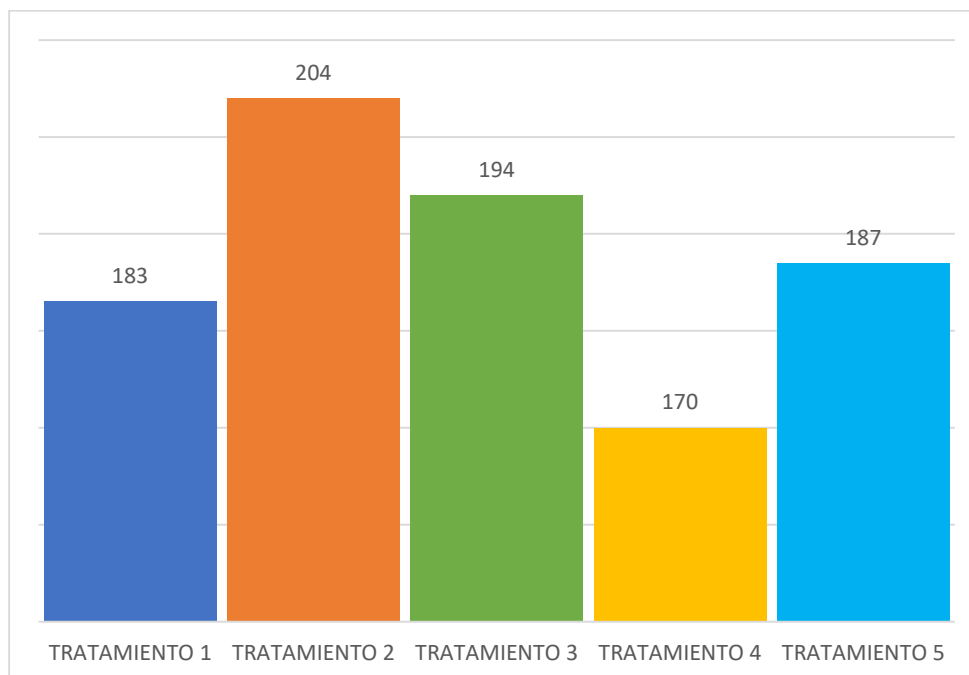
Contraste para número de tallos por golpe

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Fungicida - Saponina 1:1		0.666667	2.75928
Fungicida - Saponina 1:5		2.26667	2.75928
Fungicida - Saponina de la		1.4	2.75928
Fungicida - Testigo		1.13333	2.75928
Saponina 1:1 - Saponina 1:5		1.6	2.75928
Saponina 1:1 - Saponina de la		0.733333	2.75928
Saponina 1:1 - Testigo		0.466667	2.75928
Saponina 1:5 - Saponina de la		-0.866667	2.75928
Saponina 1:5 - Testigo		-1.13333	2.75928
Saponina de la - Testigo		-0.266667	2.75928

* indica una diferencia significativa.

Figura 50

Número de tallos totales por tratamientos



6.1.2.3 Número de vainas maduras

Cuadro 07: Cuadro ordenado de resultados de número de vainas maduras

REPETICIONES	TRATAMIENTOS				
	T1	T2	T3	T4	T5
R1	81	110	64	92	67
	41	59	61	84	55
	50	52	104	51	48
	70	124	84	58	52
	92	105	91	98	66
R2	86	94	90	95	72
	40	64	44	50	44
	54	83	85	52	81
	52	93	42	69	78
	71	65	45	70	68
R3	34	64	44	28	52
	44	66	72	48	46
	46	85	38	50	37
	56	81	80	19	51
	54	30	56	63	52
ΣT	871	1175	1000	927	869
\bar{X}	58.07	78.33	66.67	61.80	57.93

Análisis de varianza para número de vainas maduras

Tabla 14

Análisis de Varianza para nro. de vainas maduras - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamientos	4317.55	4	1079.39	3.23	0.0174
B:BLOQUE	6659.12	2	3329.56	9.95	0.0002
RESIDUOS	22743.8	68	334.468		
TOTAL (CORREGIDO)	33720.5	74			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El valor-P para el tratamiento (0.0174) es menor que 0.05, lo que indica que hay diferencias significativas en el número de vainas maduras entre los tratamientos.

El valor-P para los bloques (0.0002) es menor que 0.05, indicando diferencias significativas entre los bloques.

Prueba de Tukey

Tabla 15

Pruebas de Múltiple Rangos para nro. de vainas maduras por tratamientos

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamientos</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Testigo	15	57.9333	4.72206	A
Saponina com.	15	58.0667	4.72206	A
Saponina 1:5	15	61.8	4.72206	AB
Saponina 1:1	15	66.6667	4.72206	AB
Fungicida	15	78.3333	4.72206	B

Las diferencias entre el tratamiento con fungicida y varios otros tratamientos (Saponina comercial, Testigo) son significativas, indicando que el fungicida fue más efectivo para aumentar el número de vainas maduras.

Tabla 16

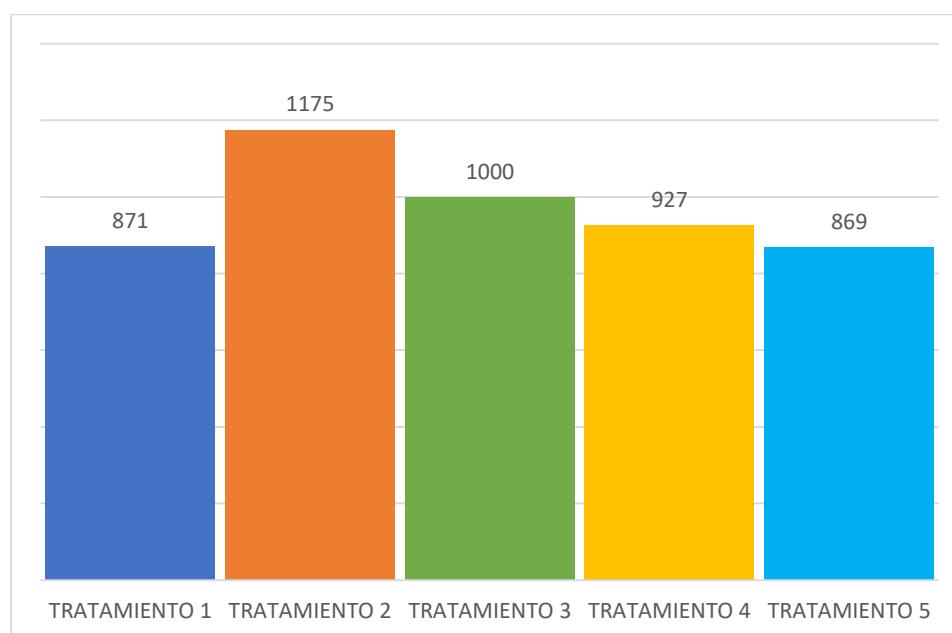
Contraste para número de vainas maduras

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Fungicida - Saponina 1:1		11.6667	18.7139
Fungicida - Saponina 1:5		16.5333	18.7139
Fungicida - Saponina com.	*	20.2667	18.7139
Fungicida - Testigo	*	20.4	18.7139
Saponina 1:1 - Saponina 1:5		4.86667	18.7139
Saponina 1:1 - Saponina com.		8.6	18.7139
Saponina 1:1 - Testigo		8.73333	18.7139
Saponina 1:5 - Saponina com.		3.73333	18.7139
Saponina 1:5 - Testigo		3.86667	18.7139
Saponina com. - Testigo		0.133333	18.7139

* indica una diferencia significativa.

Figura 51

Número de Vainas Maduras totales por tratamientos



6.1.2.4 Rendimiento de habas en grano seco en kg

Cuadro 08: Cuadro ordenado de resultados de rendimiento de habas en kg

REPETICIONES	TRATAMIENTOS				
	T1	T2	T3	T4	T5
R1	9.11	9.24	11.145	9.35	8.3
R2	8.965	10.02	8.42	8.825	9.405
R3	9.105	8.76	7.85	7.115	8.14
ΣT	27.18	28.02	27.415	25.29	25.845
\bar{X}	9.06	9.34	9.138333333	8.43	8.615

Análisis de Varianza para rendimiento

Tabla 17

Análisis de varianza para rendimiento de grano seco de haba en Kg

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	1.73022	4	0.432554	0.53	0.7194
B: BLOQUE	4.14486	2	2.07243	2.53	0.1410
RESIDUOS	6.5606	8	0.820075		
TOTAL (CORREGIDO)	12.4357	14			

De la tabla N° 17 se observa que el factor Tratamiento (A), que indica los diferentes tratamientos aplicados, no muestra una diferencia estadísticamente significativa en el rendimiento en grano seco de haba. La suma de cuadrados para este factor es de 1.73022, con 4 grados de libertad y un cuadrado medio de 0.432554. La razón-F asociada es de 0.53, y el valor-P correspondiente es 0.7194, lo que sugiere que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos en términos de su efecto en el rendimiento de grano seco de haba.

Por otro lado, el factor BLOQUE (B), que indica la variabilidad entre los diferentes bloques experimentales, tampoco muestra un efecto estadísticamente significativo en el rendimiento de grano seco de haba. La suma de cuadrados para este factor es de 4.14486, con 2 grados de libertad y un cuadrado medio de 2.07243. La razón-F asociada es de 2.53, y el valor-P correspondiente es 0.1410, lo que sugiere que, aunque la diferencia entre los bloques tiene cierta influencia, no alcanza un nivel de significancia estadística.

Prueba Tukey

Tabla18

Análisis LSD para rendimiento de grano seco de haba en Kg

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Saponina 1:5	3	8.43	0.522837	X
Testigo	3	8.615	0.522837	X
Saponina com.	3	9.06	0.522837	X
Saponina 1:1	3	9.13833	0.522837	X
Fungicida	3	9.34	0.522837	X

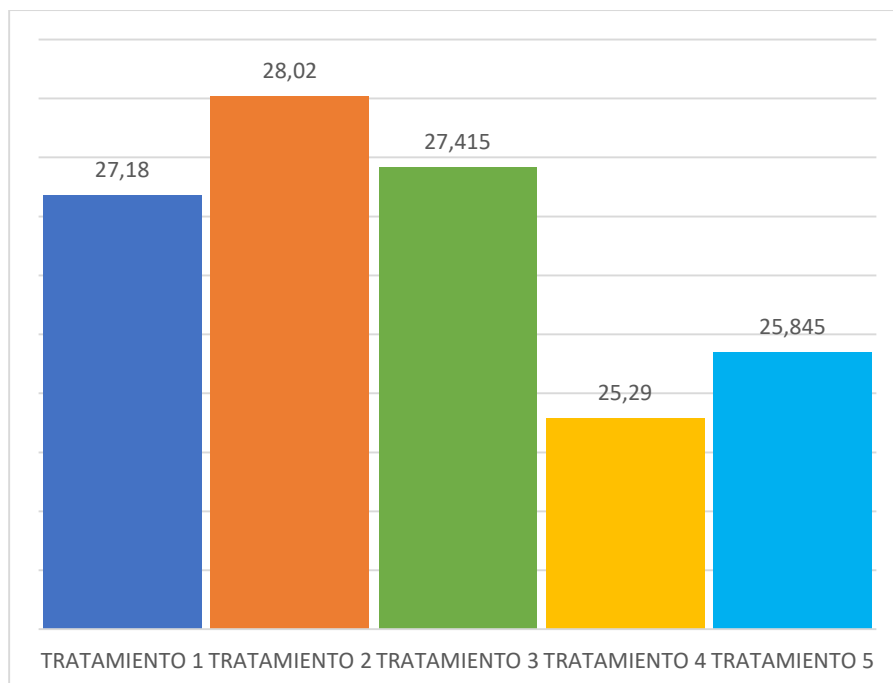
Es el error estándar en este caso, es igual para todos los tratamientos.

Las "X" indican que no hay diferencias estadísticamente significativas entre sus medios de rendimiento.

Tabla19**Contraste para rendimiento de grano seco de haba en Kg**

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Fungicida - Saponina 1:1	0.201667		1.70507
Fungicida - Saponina 1:5	0.91		1.70507
Fungicida - Saponina com.	0.28		1.70507
Fungicida - Testigo	0.725		1.70507
Saponina 1:1 - Saponina 1:5	0.708333		1.70507
Saponina 1:1 - Saponina com.	0.0783333		1.70507
Saponina 1:1 - Testigo	0.523333		1.70507
Saponina 1:5 - Saponina com	-0.63		1.70507
Saponina 1:5 - Testigo	-0.185		1.70507
Saponina com - Testigo	0.445		1.70507

El análisis LSD al 95% muestra que todos los tratamientos no muestran diferencias significativas en cuanto al rendimiento en Kg de grano de haba seca.

Figura 52**Peso total de grano seco en kilogramos**

6.2 Variables evaluadas en laboratorio

6.2.1 Porcentaje de Inhibición Micelial

Cuadro 09: Cuadro ordenado de resultados de porcentaje de inhibición micelial

(Datos originales, cuadro N°14 del anexo 04)

REPETICIONES	TRATAMIENTOS				
	T1	T2	T3	T4	T5
R1	76.78	64.53	50.57	23.59	0.00
R2	75.90	61.69	51.48	24.22	0.00
R3	75.71	64.21	49.23	22.69	0.00
R4	76.46	66.21	49.19	24.53	0.00
ΣT	304.85	256.64	200.47	95.03	0
\bar{X}	76.2125	64.16	50.1175	23.7575	0

Análisis de Varianza para porcentaje de inhibición micelial

Tabla 20

Análisis anova para porcentaje de inhibición micelial del hongo en condiciones de laboratorio al décimo día.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	15282.5	4	3820.64	3398.41	0.0000
Intra grupos	16.8636	15	1.12424		
Total (Corr.)	15299.4	19			

*Prueba de Duncan***Tabla 21**

Pruebas de Múltiple Rangos para porcentaje de inhibición micelial del hongo en condiciones de laboratorio al décimo día.

Método: 95.0 porcentaje Duncan

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Testigo	4	0	A
Saponina 1:5	4	23.7575	B
Saponina 1:1	4	50.1175	C
Fungicida	4	64.16	D
Saponina com.	4	76.2125	E

Tabla 22

Contraste para porcentaje de inhibición micelial del hongo en condiciones de laboratorio al décimo día.

Contraste	Sig.	Diferencia
Fungicida - Saponina 1:1	*	14.0425
Fungicida - Saponina 1:5	*	40.4025
Fungicida - Saponina com.	*	-12.0525
Fungicida - Testigo	*	64.16
Saponina 1:1 - Saponina 1:5	*	26.36
Saponina 1:1 - Saponina com.	*	-26.095
Saponina 1:1 - Testigo	*	50.1175
Saponina 1:5 - Saponina com.	*	-52.455
Saponina 1:5 - Testigo	*	23.7575
Saponina com. - Testigo	*	76.2125

* indica una diferencia significativa.

El ANOVA también mostró diferencias altamente significativas ($p=0,0000$) entre tratamientos.

Los grupos formados por Duncan fueron: A) Testigo 0%, B) Saponina 1:5 con 23.76%, C) Saponina 1:1 con 50.12%, D) Fungicida con 64.16% y E) Saponina comercial con la mayor inhibición de 76.21 %.

Al décimo día, la Saponina comercial mantuvo la inhibición significativamente más alta, seguida del Fungicida. La Saponina 1:1 fue mejor que la 1:5 pero inferior a los anteriores.

Figura 53

Crecimiento al séptimo día del hongo Botrytis fabae en placas Petri con los tratamientos asignados

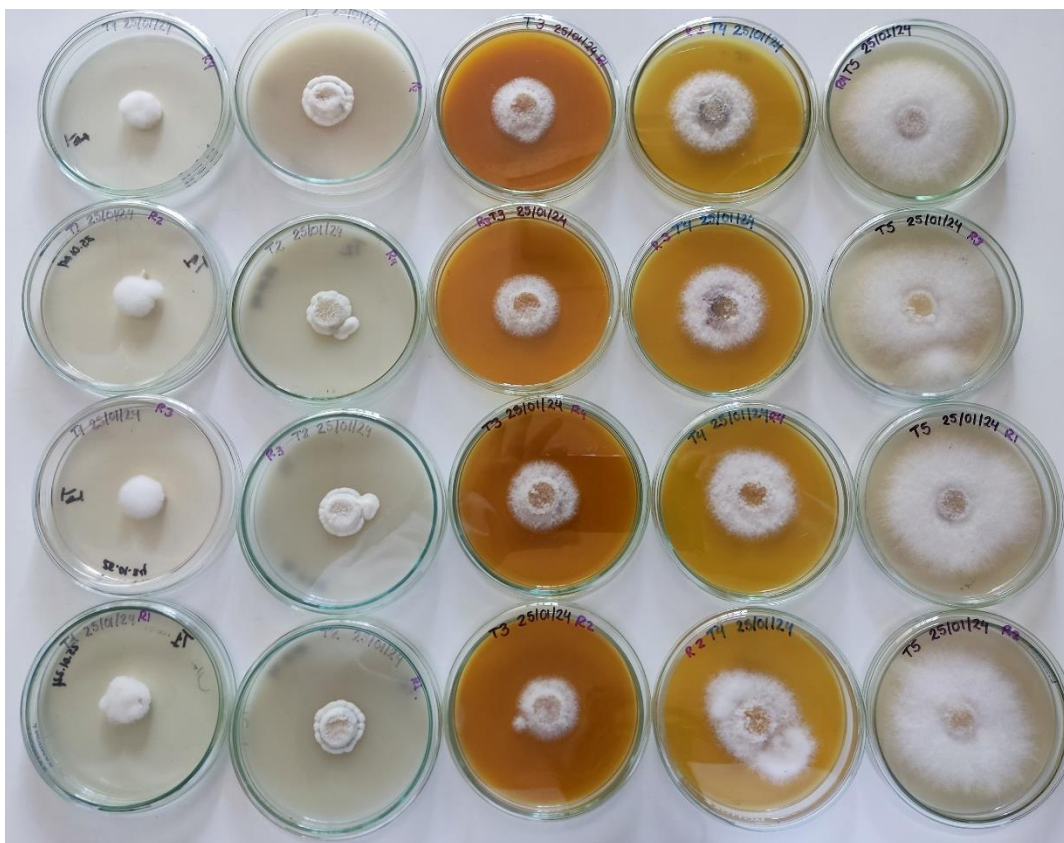
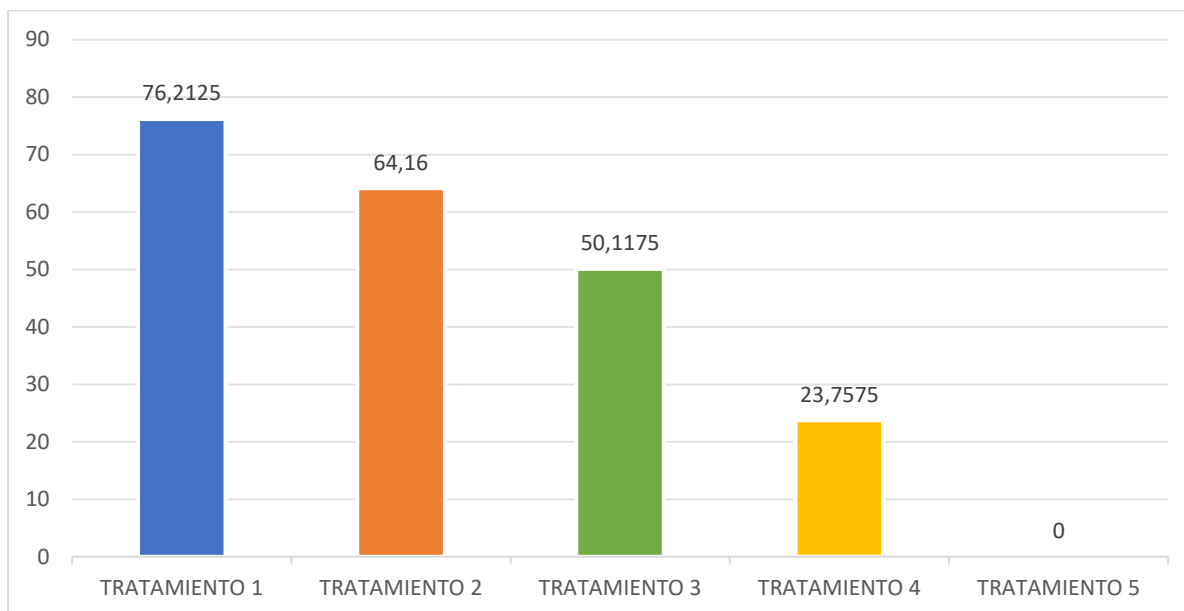


Figura 54**Porcentaje promedio de inhibición micelial****6.2.2 Porcentaje de crecimiento de hongo****Cuadro 10: Cuadro ordenado de resultados de porcentaje de crecimiento del hongo al décimo día***(Datos originales, cuadro N°15 del Anexo 05)*

REPETICIONES	TRATAMIENTOS				
	T1	T2	T3	T4	T5
R1	23.22	35.47	49.43	76.41	100
R2	24.10	38.31	48.52	75.78	100
R3	24.29	35.79	50.77	77.31	100
R4	23.54	33.79	50.81	75.47	100
ΣT	95.15	143.36	199.53	304.97	400
\bar{X}	23.7875	35.84	49.8825	76.2425	100

Análisis de Varianza para porcentaje de crecimiento del hongo

Tabla23

ANOVA para crecimiento del hongo al décimo día

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	15282.5	4	3820.64	3398.41	0.0000
Intra grupos	16.8636	15	1.12424		
Total (Corr.)	15299.4	19			

El análisis de la tabla 23 revela que los tratamientos ejercen un impacto significativo en el crecimiento del hongo al décimo día en condiciones de laboratorio. Al examinar los resultados de la prueba ANOVA, se observa que al menos uno de los tratamientos difiere significativamente en su efecto sobre el porcentaje de crecimiento del hongo en comparación con los demás tratamientos. Este hallazgo se respalda por el valor-p obtenido en la prueba de razón-F, el cual es considerablemente menor que el nivel de significancia predefinido ($p\text{-value} < 0.05$), lo que indica que las diferencias entre los tratamientos son estadísticamente significativas.

Prueba de Duncan

Tabla24

Análisis LSD para crecimiento del hongo en condiciones de laboratorio al décimo día

<i>Tratamientos</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Saponina com.	4	23.7875	X
Fungicida	4	35.84	X
Saponina 1:1	4	49.8825	X
Saponina 1:5	4	76.2425	X
Testigo	4	100.0	X

Tabla25

Contraste para crecimiento del hongo en condiciones de laboratorio al décimo día

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Fungicida - Saponina 1:1	*	-14.0425	1.59805
Fungicida - Saponina 1:5	*	-40.4025	1.59805
Fungicida - Saponina com.	*	12.0525	1.59805
Fungicida - Testigo	*	-64.16	1.59805
Saponina 1:1 - Saponina 1:5	*	-26.36	1.59805
Saponina 1:1 - Saponina com.	*	26.095	1.59805
Saponina 1:1 - Testigo	*	-50.1175	1.59805
Saponina 1:5 - Saponina com.	*	52.455	1.59805
Saponina 1:5 - Testigo	*	-23.7575	1.59805
Saponina com. - Testigo	*	-76.2125	1.59805

El análisis LSD al 95% muestra que todos los grupos son estadísticamente diferentes en cuanto a la acción sobre el crecimiento del hongo, en contraste la aplicación de la Saponina Comercial muestra un mejor efecto fungicida.

Figura 55

Crecimiento al décimo día del hongo Botrytis fabae en placas Petri con los tratamientos asignados

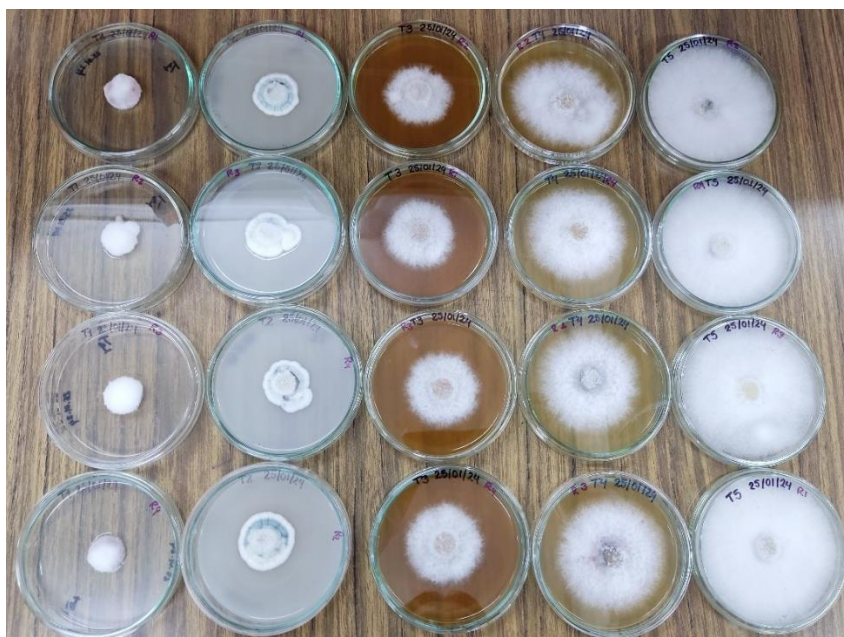
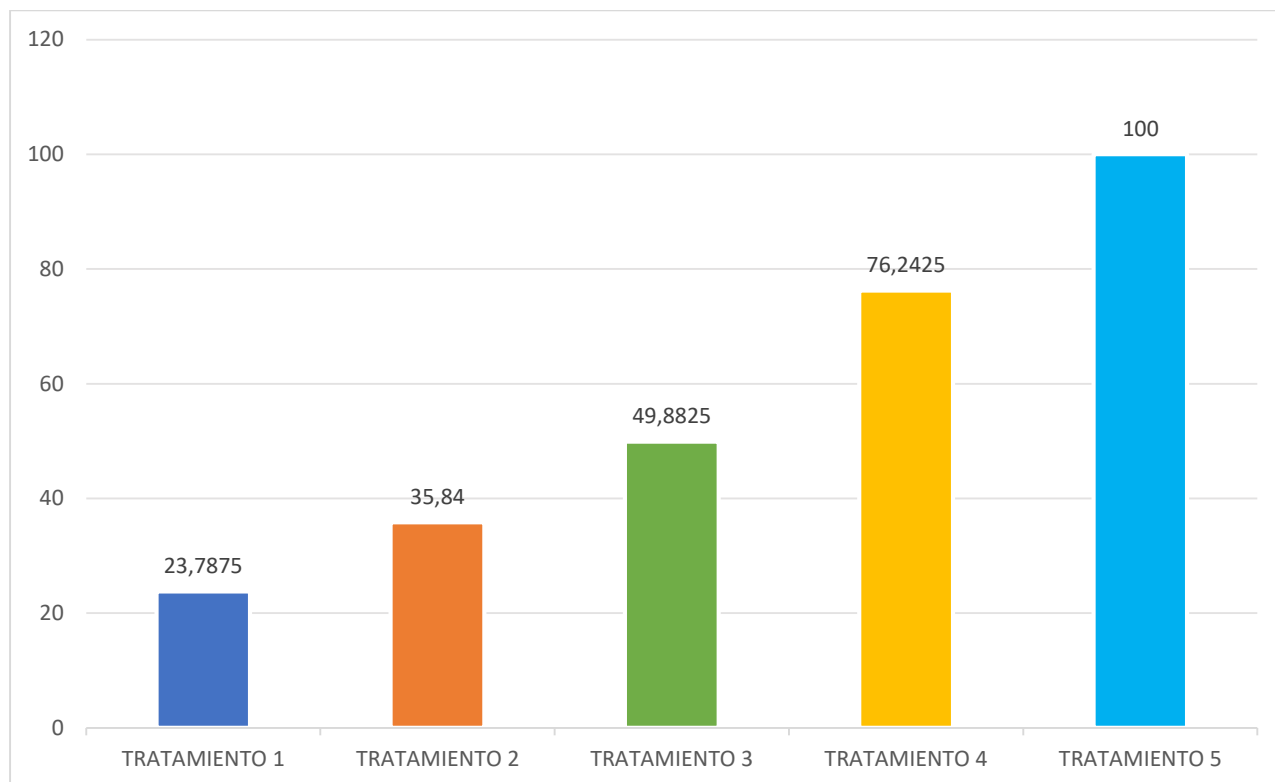


Figura 56**Porcentaje promedio de crecimiento micelial**

6.3 Discusión

6.3.1 Discusión de resultados de campo

De los resultados obtenidos en relación con el objetivo planteado en campo, el Tratamiento fungicida Arado es el que mostró mayor efectividad de control de *Botrytis fabae*, esta diferencia se muestra en la severidad de daño con respecto a los tratamientos con Saponina. Donde, las saponinas, el tratamiento de saponina a la concentración 1:1, presentó el mayor control en grados de severidad promedio en cultivo de haba. Seguido por el tratamiento con Saponina comercial y el tratamiento de Saponina a la concentración 1:5, mostraron un control intermedio de la severidad. Sin embargo, Flores (2017) en su trabajo de investigación titulado "Efecto de tres dosis de extracto de saponina de quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*) en su forma sobrenadante para el control del hongo *Botrytis sp.* bajo condiciones de laboratorio y en cultivo de haba", la dosis 1/100 del extracto de saponina sobrenadante arrojó los mejores resultados al disminuir la incidencia en campo y mejorar variables como altura de planta, área foliar y rendimiento. Estos resultados sugieren un potencial de las saponinas como tratamiento alternativo, aunque inferior al fungicida químico evaluado.

Cabe resaltar que en el trabajo de investigación de Flores (2017) los tratamientos con saponina no fueron comparados con el efecto de algún fungicida.

6.3.2 Discusión de resultados de laboratorio

La caracterización macro y microscópica del patógeno permitió una identificación confiable como *Botrytis fabae*. La evaluación de múltiples variables de respuesta (incidencia, rendimiento, etc.) en campo entrega una visión integral del efecto de los tratamientos.

En las tres fechas evaluadas, la Saponina comercial logró los mayores porcentajes de inhibición del crecimiento del hongo *Botrytis fabae*, superando incluso al fungicida Arado en los días 7 y

10. La Saponina a la concentración 1:1 también mostró una inhibición significativamente, mejor que la Saponina a la concentración 1:5. Estos resultados sugieren que a mayor concentración y pureza de la saponina, mayor es su efecto inhibidor sobre este hongo fitopatógeno en condiciones de laboratorio.

Estos resultados sugieren un potencial halagador de las saponinas de quinua como agentes antifúngicos para inhibir el crecimiento micelial de *Botrytis fabae* bajo condiciones de laboratorio.

Estos resultados concuerdan con (Flores, 2017) en el trabajo de investigación titulado "Efecto de tres dosis de extracto de saponina de quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*) en su forma sobrenadante para el control del hongo *Botrytis sp.* bajo condiciones de laboratorio y en cultivo de haba", en donde la dosis 1/100 del extracto de saponina sobrenadante mostró la mayor inhibición del crecimiento de *Botrytis* en las pruebas *in vitro*. Esto sugiere un efecto fungicida/fungistático promisorio de la saponina de quinua contra *Botrytis fabae*. Este estudio representa un avance importante en la búsqueda de alternativas naturales para el manejo de enfermedades en cultivos, aprovechando compuestos de origen vegetal con reconocidas propiedades antimicrobianas. Los resultados alientan a continuar profundizando en esta línea de investigación, abordando aspectos técnicos, de escalamiento y análisis de factibilidad para una potencial aplicación comercial de estos extractos bioactivos.

VII. CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

7.1 Conclusiones

Basándonos en nuestros objetivos declarados y en las observaciones realizadas a lo largo de esta investigación, extraemos las siguientes conclusiones:

1. Se determinó que el T2 (Fungicida Arado) resultó ser el tratamiento más efectivo para controlar los grados de severidad de la enfermedad *Botrytis fabae*. Con respecto a las saponinas, el T3 (Saponina a la concentración 1:1) presentó la mayor capacidad para controlar los grados de severidad promedio. Seguido por el T1 (Saponina comercial) y el T4 (Saponina a la concentración 1:5) mostraron un control intermedio de la severidad. Se determinó también que en la influencia en el rendimiento no existen diferencias significativas entre los tratamientos, por lo tanto, se puede aseverar que el rendimiento no se ve afectado por la aplicación de los tratamientos.
2. Se concluyó que el tratamiento T1 (Saponina Comercial) mostró el mayor porcentaje de inhibición del crecimiento micelial con un 71.78%, seguido por el tratamiento T2 (Fungicida Arado) con un 65.07% y T3 (Saponina a la concentración 1:1) con un 54.62%. El tratamiento T4 (Saponina a la concentración 1:5) tuvo un 39.39% de inhibición, inferior a los tres tratamientos con saponinas evaluados en condiciones de laboratorio.

7.2 Sugerencias

- Evaluar la interacción de las diferentes concentraciones de saponina como fungicidas con otras fuentes de nutrientes, abonos y fertilizantes para mejorar el rendimiento del cultivo de haba en campo.
- Estudiar la respuesta de diferentes concentraciones de Saponina a nivel de campo acorde un correcto plan de fertilización por zona geográfica.
- Evaluar la efectividad de la saponina en diferentes concentraciones como pesticida natural sobre diferentes plagas y enfermedades en distintos cultivos.
- Probar el método combinado para obtener una mayor extracción de la saponina, porque este método combina el proceso de escarificado y el lavado para poder extraer de forma más eficiente la saponina.
- Probar la efectividad de la combinación de varios extractos vegetales con potencial bioactivo para generar efectos sinérgicos o complementarios con más eficacia contra los hongos fitopatógenos.
- Comparar diferentes métodos de extracción de la saponina a nivel de laboratorio para evaluar cuál de los métodos es el más eficiente para obtener mayor pureza y concentración de saponina.
- Someter a la saponina a distintos enfrentamientos contra otros hongos fitopatógenos en condiciones de laboratorio para evaluar la eficacia de la saponina para inhibir el crecimiento micelial de los hongos fitopatógenos.

VIII. BIBLIOGRAFIA

- Agrios. (1997). *Fitopatología*. Mexico D.F, Mexico: Limusa.
- Aguamarket. (1999-2024). *Aguamarket*.
<https://www.aguamarket.com/diccionario/terminos.asp?Id=1857>
- Aguirre, J. (2012). *Evaluación de plagas y enfermedades del haba bajo diferentes tipos de manejo*. Yunguyo.
- Ahumada, A., Ortega, D., & Benítez, R. (2016). Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico. *Revista Colombiana de Ciencias Químico - Farmacéuticas*.
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74182016000300006
- Apaza Divapuri, R. (2010). *Determinación de la dosis óptima de saponina de quinua (Chenopodium quinoa Willd.) para el control del hongo Cercospora beticola en el cultivo de acelga (beta vulgaris l.) bajo condiciones de laboratorio*. Universidad Académica Campesina, Carmen Pampa.
- Apaza, R. (2016). "EFECTO DE SAPONINAS DE *Chenopodium Quinoa* Willd CONTRA EL FITOPATÓGENO *Cercospora Beticola* Sacc.". Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia.
- Apaza, V. (2013). *Registro de Cultivares Comerciales de Quinua*. Instituto Nacional de Innovación Agraria, Lima, Perú.
- Arratea, M. (2011). *Guano de islas y potasio en el rendimiento de haba baby (Vicia faba L.) en condiciones edafoclimáticas de Ilave – Puno. Tesis para optar el título profesional*. Puno.

- Atacushi Rosero, C. D. (2015). “*efecto de las distancias de siembra en tres variedades del cultivo de haba (vicia faba), bajo un sistema de agricultura limpia*”. Universidad Técnica de Ambato, Ambato. <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/20314>
- Atlas, R. (1997). *Handbook of Microbiological Media*.
- Bacigalupo, A. y. (1990). *Cultivos Andinos FAO*.
- Barioglio, C. F. (2006). *Diccionario de Las Ciencias Agropecuarias*. Editorial Brujas.
- Bazile, D. y. (2013). “*Estado del arte de la quinua en el mundo en 2013*”. Santiago de Chile. [https://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/987D7E63A6AD525605257E8A005FF4ED/\\$FILE/1_34_Estado_ArteDeLaQuinuaEnElMundoEn2013.pdf](https://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/987D7E63A6AD525605257E8A005FF4ED/$FILE/1_34_Estado_ArteDeLaQuinuaEnElMundoEn2013.pdf)
- Bromatech. (s.f.). <https://www.gutmicrobiotaforhealth.com/es/glossary/agente-patogeno/#:~:text=Los%20pat%C3%B3genos%20son%20agentes%20infecciosos,de%20plantas%2C%20animales%20y%20humano.>
- Cañedo, V. (2004). *Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos*. Lima, Perú.
- Cañedo, V., & Ames, T. (2004). *Manual de Aislamiento de Hongos Fitopatógenos IIFB*.
- Carmona Tellez, C., Alba Gutiérrez, E., & Rodríguez, O. (2011). *La química en tus manos III: ciencias químico-biológicas y de la salud*. Mexico.
- Castaño Zapata, J. (2002). *Principios básicos de fitoepidemiología*. Manizales: Universidad de Caldas.
- Cerrate, F., Camarena, M., & Chiape, L. (1981). *Cultivo de haba. Vicia faba L.* La Molina, Lima, Perú.

- Choque, J. (2020). La haba se consolida como la segunda leguminosa más importante del Perú. *Logística 360*. <https://logistica360.pe/logistica360-pe-la-haba-se-consolida-como-la-segunda-leguminosa-mas-importante-del-peru/>
- Coca, M. (2007). *Manchas foliares del haba (Vicia faba l.)*. Facultad de ciencias agrícolas, pecuarias, forestales y veterinarias dr. “Martín cárdenas”. Universidad Mayor de San Simon, Cochabamba, Bolivia.
- Coronel Callisaya, A. y. (2022). Extracción de almidón de papa (*Solanum tuberosum*), yuca (*Manihot esculenta*), camote (*Ipomoea batatas*). *Revista Estudiantil AGRO-VET*.
- Del Barco Gamarra, M. T. (2016). *La adopción de tecnología como una forma de internalizar las externalidades ambientales del beneficiado de quinua en Oruro Bolivia*. Colegio de la frontera Norte, Monterrey.
- Delgado, A. (2013). *Diarios de la quinoa. Defensa del cultivo de la quinua en la provincia del guavio y la justificación teorica para la creación y comercialización a nivel local de un producto con base a quinoa para garantizar el autoconsumo indirecto por parte de la poblac*. Universidad de los andes, Bogotá.
- Doussoulin Jara, H. (2010). *evaluación fitopatológica en cultivares de haba (vicia faba l.) de crecimiento determinado, en Valdivia, región de los ríos*. Valdivia.
- Ellis, M. (1971). *Dematiaceous Hyphomycetes*. Kew, Surrey, England: Commonwealth Mycological.
- Etecé, E. (2013-2024). *Concepto* . <https://concepto.de/inhibicion/#ixzz8naqHAr6c>
- FAO, & A. (2014). *Tendencias y perspectivas del comercio internacional de quinua*.

- Fernández Hinojosa, G. (1986). *Fisiología Vegetal experimental*. Costa Rica: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura.
- Fernandez, V. M. (1996). *Selección de mutantes de Chenopodium quinoa willd en la generación y cuantificación de saponina en las variedades isluga y barandales adaptados al valle de Toluca*. Universidad Nacional Autónoma de Mexico.
- Flores Torrez, G. L. (2017). *Efecto de tres dosis de extracto de saponina de quinua en su forma sobrenadante para el control del hongo Botrytis sp. bajo condiciones de laboratorio y en cultivo de haba*. La paz.
- Gamboa, S. G. (2008). *Esterilización por calor húmedo*.
http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_Esterilizaci%C3%B3n_por_calor_h%C3%BAmedo.pdf
- García Ibazeta, G. R. (2019). *"TRATAMIENTOS COMBINADOS DE SAPONINA DE QUINUA (Chenopodium quinoa Wild.), CANELA (Cinnamomum zeylanicum) y Clavo de olor (Syzygium aromaticum) SOBRE EL DESARROLLO DE HONGOS FITOPATÓGENOS"*. Lima, Perú.
- Gardey, J., & Pérez Porto, A. (26 de abril de 2024). *Definición.de*.
<https://definicion.de/surfactante/>
- Gianna, V. (2013). *Extracción, Cuantificación y Purificación de Saponinas de semillas de chenopodium Quinoa Willd provenientes del Noroeste Argentino*. Universidad Nacional de Cordoba. <http://hdl.handle.net/11086/1413>

Gómez Ramírez, H., Soberanis Ramírez, W., Tenorio Cantoral, M., & Torres Del Aguila, E.

(2013). *MANUAL DE PRODUCCIÓN Y USO DE HONGOS ANTAGONISTAS*.

Ministerio de Agricultura. <https://www.senasa.gob.pe/senasa/wp-content/uploads/2017/09/Manual-de-Producci%C3%83%C2%B3n-y-Usode-Hongos-Antagonistas.pdf>

GreenFacts. (2001-2023). *GreenFacts*.

<https://www.greenfacts.org/es/glosario/abc/antimicrobiano.htm>

Güçlü-Üstündag, Ö. &. (2007). Saponins: properties, applications and processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*,.

Hernández, R. (1997). *Obtención de crudos de saponinas hipocolesteromizantes del Chenopodium quinoa Willd*. Rev Cubana Med Mil.

Horque, D. (1984). *El cultivo de haba*. Cusco.

Horque, F. R. (2004). *Cultivo del Haba*. lima, Perú.

Huaman Viera, H. K. (2018). *Obtención de saponina de la corteza de quinua (Chenopodium quinoa) mediante extracción hidroalcohólica*. TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO QUÍMICO, Lima-Perú.

file:///C:/Users/ASUS/Downloads/Huaman%20Viera%20y%20Shuan%20Huanca__titulo%20quimica_2018.pdf

IndiKit. (s.f.). *People in need*. <https://www.indikit.net/indicator/207-reported-crop-yield-per-unit>

Infoagro. (s.f.). El cultivo de Haba. *AGRI nova Science*.

<https://www.infoagro.com/hortalizas/haba.htm>

- INFOAGRO. (s.f.). *El cultivo de la haba*. Mexico. <https://infoagro.com/hortalizas/haba.htm>
- INIA. (s.f.). *Manejo de cultivo de Haba*. Estación Experimental Agraria Santa Ana - Huancayo .
- INIAF. (2017). *Manual del cultivo de haba*. instituto nacional de innovación agropecuaria y forestal. <http://www.amdeco.org.bo/archivos/manualdelcultivodelhaba.pdf>
- INIAF. (S/N). *Guía para la implementación de buenas prácticas agrícolas (BPA)*.
<https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2020/07/Guia-BPA-HABA.pdf>
- IUPAC. (1997). *Compendium of Chemical Terminology 2nd Edition*.
- Jauch. (1979). *Patología Vegetal*. Buenos Aires.
- Lopez, R. (2009). El forraje verde hidropónico (fvh): una alternativa de producción de alimento para el ganado en zonas áridas. *SciELO*, 34(2).
- Lopez, T. (2001). Saponósidos. *Fitoterapia*.
- Lumitos, A. (2024). *Química.es*. <https://www.quimica.es/enciclopedia/Conidi%C3%B3foro.html>
- Maldonado, F. N. (2009). *Evaluación de resistencia de ecotipos de haba (vicia faba) a poblaciones de Botrytis fabae sard. del altiplano norte de La Paz en condiciones in vitro*. La paz, Bolivia.
- Minchez, I. J. (2015). *Evaluación de trichoderma harzianum para el control de botrytis fabae en el cultivo de haba*. Universidad Rafael Landivar, Guatemala.
- Ministerio del Ambiente, M. (2014). *Manual de evaluación de plagas y enfermedades en el cultivo de maíz*. Lima, Perú.

- Mujica, S. (2007). *Conservación de la agrobiodiversidad de granos andinos quinua (chenopodium quinoa willd.), kañawa (chenopodium pallidicaule allen), milmi (amaranthus caudatus l.) y tauri (lupinus mutabilis sweet.) y sus parientes silvestres en los andes*. Congreso sudamericano de ingenieros agrónomos de Bolivia, La paz.
- Navarra, U. d. (2020). «*Términos del diccionario médico de la Clínica Universidad de Navarra*». <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/conidio>
- Nieto, C. &. (1994). *Producción y procesamiento de Quinoa en Ecuador. [Production and processing of Quinoa in Ecuador]. Programa de cultivos Andinos, Estación Experimental Santa Catalina, INIAP. . Quito .*
- OMS. (2012). *Descriptores en Ciencias de la Salud*. <https://id.nlm.nih.gov/mesh/D060146>
- Our World in Data, U. K. (2021). Long-term cereal yields in the United Kingdom. *Our World in Data*.
- Padilla, S. (2020). Modelos Logit y Probit. *Economipedia*.
<https://economipedia.com/definiciones/modelos-logit-y-probit.html>
- Paredes Pari, R. (2007). *Opciones de adaptación al cambio climático en el cultivo de haba (Vicia faba l.), altiplano norte La Paz*.
- Perez Ochoa, J. y. (2009). *Evaluación de Métodos de Extracción de Saponinas de los Residuos del Beneficio del Fique*. Tesis para obtener el grado de Ingeniero Químico., Santander.
- Portugal, B. J. (2013). Saponina, un tesoro desconocido de la cascara de quinua. *Medicina Intercultural*. <http://medicinaintercultural.org/contenido/2013-07-04-saponina-un-tesoro-desconocido-de-la-c%C3%A1scara-de-la-quinua>

- Prado Rosero, R. (2018). *Evaluación de técnicas de extracción de saponinas de la quinua (Chenopodium quinoa Willd) como alternativa de mejoramiento para la cadena productiva en Cundinamarca*. Bogotá.
- Quiroga, L. (2010). Evaluación de la Calidad Nutricional y Morfología del Grano de variedades amargas de Quinua beneficiadas en seco, mediante el novedoso empleo de un Reactor de Lecho Fluidizado de tipo Surtidor,. 10.
- RAE, R. A. (2024). *Real Academia de la Lengua Española*. <https://dle.rae.es/defoliaci%C3%B3n>
- Real Academia Española, A. d. (2011). *Diccionario panhispánico de dudas (2.ª edición, versión provisional)*. Diccionario panhispánico de dudas (2.ª edición, versión provisional): <https://www.rae.es/dpd/in+situ>
- República, L. (17 de Agosto de 2020). La haba se consolida como la segunda leguminosa más importante del Perú. *Logística* 360, 1.
- Robles. ((s/f)).
- Salazar, E. R.-A. (2012). *Identificación molecular del hongo Colletotrichum spp., aislado de banano (Musa spp) de altura en la zona de Turrialba y determinación de su sensibilidad a fungicidas poscosecha*. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0377-94242012000100004
- Sánchez Yupangui, V. M. (2019). *"EFECTO DE TRES RESIDUOS INDUSTRIALES DE QUINUA SOBRE Alternaria sp. y Botrytis fabae EN HABA (Vicia faba)"*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador.

- Sarzuri, Y. (2012). *Efecto de diferentes dosis y extractos de saponina de quinua (Chenopodium quinoa) en su forma cruda, polar y sobrenadante para el control biológico del hongo Botrytis sp. en el cultivo del haba (Vicia faba) bajo condiciones de laboratorio*. La paz, Carmen Pampa.
- SENASA. (2017). Cusco evaluación de cultivos de haba para detección de plagas. *SENASA contigo*.
- SENASA, P. (s.f.). Guía para la implementación de buenas prácticas agrícolas (BPA) para el cultivo de haba. *Dirección de insumos agropecuarios e inocuidad agroalimentaria*.
- Shunta Ronquillo, J. C. (2018). *Optimización del desaponificado de la quinua para la elaboración de productos derivados mediante implementación de una máquina escarificadora en la empresa Asoalienu*. TRABAJO DE TITULACIÓN, Riobamba-Ecuador.
- Shunta Ronquillo, J. C., García-Cabezas, E. F., Orozco-Ramos, J. M., & Cayán-Martínez, J. C. (2021). Desaponificado de la Quinua en productos elaborados con una máquina escarificadora. *Revista Arbitrada Interdisciplinaria Koinoní*, 6(12).
<https://www.redalyc.org/journal/5768/576868967027/html/#:~:text=Consiste%20en%20someter%20al%20grano,en%20el%20agua%20de%20lavado>.
- Siller, J. D. (2012). *Extracción y purificación de saponinas del residuo del tallado de Agave lechuguilla Torrey (guishe) y su aplicación potencial*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Mexico.
- Soto, A. M. (s.f.). Conservación de Hongos Microscópicos.

- Stuardo Guzmán, M. X., & San Martín Gamboa, R. M. (2007). "*PROPIEDADES ANTIFÚNGICAS DE LAS SAPONINAS DE QUINUA (Chenopodium Quinoa Willd) PROCESADAS CON ÁLCALIS CONTRA Botrytis Cinerea*". Pontificia Universidad Católica de Chile.
- Taber's Cyclopedic Medical, d. (2021). Taber's Cyclopedic Medical Dictionary.
www.tabers.com/tabersonline/view/Tabers-Dictionary/729742/0/incidence?q=Incidence
- Tapia, M. (1979). *La quinua y la kañiwa: Cultivos Andinos*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, Turrialba.
<https://repositorio.iica.int/handle/11324/16254>
- Tineo Mendoza, M. (2011). *Rendimiento en verde y grano seco de 10 variedades de haba (Vicia faba L.). Allpachaka a 3,500 m.s.n.m. - Ayacucho*. Ayacucho - Perú.
- Velazquez, V. R. (2020). Composición orgánica de los alimentos que garantizan la soberanía alimentaria en la parroquia lodana, relacionados con las ciencias agropecuarias. *Revista Científica Multidisciplinaria*, 4(2).
- Zeiger, E. (2006). *Secondary Metabolites and Plant Defense*. Sinauer Associates.

ANEXOS

*Anexo 01.**Cuadro 11: Datos de Incidencia por bloques, tratamientos y parcelas.*

BLOQUES	TRATAMIENTOS	PARCELAS	PLANTAS	INCIDENCIA
I	T1	A	P1	SE PRESENTÓ
			P2	SE PRESENTÓ
			P3	SE PRESENTÓ
			P4	SE PRESENTÓ
			P5	SE PRESENTÓ
	T2	B	P1	SE PRESENTÓ
			P2	SE PRESENTÓ
			P3	SE PRESENTÓ
			P4	SE PRESENTÓ
			P5	SE PRESENTÓ
	T3	C	P1	SE PRESENTÓ
			P2	SE PRESENTÓ
			P3	SE PRESENTÓ
			P4	SE PRESENTÓ
			P5	SE PRESENTÓ
	T4	D	P1	SE PRESENTÓ
			P2	SE PRESENTÓ
			P3	SE PRESENTÓ
			P4	SE PRESENTÓ
			P5	SE PRESENTÓ
T5	E	P1	SE PRESENTÓ	
		P2	SE PRESENTÓ	
		P3	SE PRESENTÓ	
		P4	SE PRESENTÓ	
		P5	SE PRESENTÓ	
II	T4	F	P1	SE PRESENTÓ
			P2	SE PRESENTÓ
			P3	SE PRESENTÓ
			P4	SE PRESENTÓ
			P5	SE PRESENTÓ
	T5	G	P1	SE PRESENTÓ
			P2	SE PRESENTÓ
			P3	SE PRESENTÓ
			P4	SE PRESENTÓ
			P5	SE PRESENTÓ

	T1	H	P1	SE PRESENTÓ
			P2	SE PRESENTÓ
			P3	SE PRESENTÓ
			P4	SE PRESENTÓ
			P5	SE PRESENTÓ
	T2	I	P1	NO SE PRESENTÓ
			P2	SE PRESENTÓ
			P3	SE PRESENTÓ
			P4	SE PRESENTÓ
			P5	NO SE PRESENTÓ
	T3	J	P1	SE PRESENTÓ
			P2	SE PRESENTÓ
			P3	SE PRESENTÓ
			P4	SE PRESENTÓ
			P5	SE PRESENTÓ
III	T5	K	P1	SE PRESENTÓ
			P2	SE PRESENTÓ
			P3	SE PRESENTÓ
			P4	SE PRESENTÓ
			P5	SE PRESENTÓ
	T1	L	P1	SE PRESENTÓ
			P2	SE PRESENTÓ
			P3	SE PRESENTÓ
			P4	SE PRESENTÓ
			P5	SE PRESENTÓ
	T2	M	P1	SE PRESENTÓ
			P2	NO SE PRESENTÓ
			P3	SE PRESENTÓ
			P4	SE PRESENTÓ
			P5	SE PRESENTÓ
	T3	N	P1	SE PRESENTÓ
			P2	NO SE PRESENTÓ
			P3	SE PRESENTÓ
			P4	SE PRESENTÓ
			P5	SE PRESENTÓ
T4	Ñ	P1	SE PRESENTÓ	
		P2	SE PRESENTÓ	
		P3	SE PRESENTÓ	
		P4	SE PRESENTÓ	
		P5	SE PRESENTÓ	

Anexo 02.

Cuadro 12: Datos de grado de severidad por semana

BLOQUES	TRATAMIENTOS	PARCELAS	PLANTAS	GRADO DE SEVERIDAD (CADA SEMANA DESPUES DE LA 1 APLICACIÓN)									
				SEM1	SEM2	SEM3	SEM5	SEM 6	SEM 7	SEM 9	SEM 10	SEM 11	
I	T1	A	P1	2	3	3	3	3	3	3	3	2	1
			P2	2	2	3	3	3	3	4	3	2	
			P3	3	2	2	3	3	3	3	2	1	
			P4	2	2	2	3	3	2	4	3	2	
			P5	3	2	3	4	4	2	2	2	2	
	T2	B	P1	2	2	2	2	3	3	2	2	2	1
			P2	2	2	3	3	3	2	2	2	2	
			P3	2	2	3	3	3	2	2	2	1	
			P4	2	2	2	2	2	2	1	2	2	
			P5	3	3	3	4	3	2	2	2	2	
	T3	C	P1	3	3	3	3	3	2	3	2	1	
			P2	2	2	3	3	4	3	3	3	2	
			P3	3	3	4	4	4	3	3	2	2	
			P4	2	2	3	3	3	2	2	2	1	
			P5	2	3	3	3	3	2	3	3	2	
	T4	D	P1	2	2	3	3	3	2	2	3	2	
			P2	2	3	3	3	3	2	2	2	1	
			P3	2	2	3	3	3	3	3	2	2	
			P4	2	2	2	2	3	3	3	2	2	
			P5	3	2	2	2	3	3	4	3	2	
	T5	E	P1	2	2	3	3	4	4	4	3	2	
			P2	3	3	4	3	3	2	3	3	4	
			P3	3	3	3	3	4	3	3	2	3	
			P4	2	2	2	2	3	3	4	3	4	
			P5	3	3	3	4	3	2	2	2	3	
II	T4	F	P1	3	2	2	2	3	2	3	3	3	
			P2	2	2	3	3	3	2	4	3	3	
			P3	2	2	2	2	3	2	3	3	3	
			P4	2	2	2	2	2	3	3	2	3	
			P5	2	3	3	3	2	2	3	2	2	
	T5	G	P1	3	3	4	4	4	3	3	2	2	
			P2	2	3	2	3	3	3	4	4	3	
			P3	3	3	4	4	4	2	3	4	2	
			P4	3	3	3	3	3	3	4	4	3	
			P5	4	4	4	5	4	4	3	3	3	

	T1	H	P1	3	3	2	2	3	2	3	2	2
			P2	2	2	2	2	3	3	3	2	1
			P3	2	2	2	2	3	2	2	2	2
			P4	3	3	4	3	2	2	2	2	2
			P5	2	3	3	3	3	2	3	2	2
	T2	I	P1	1	1	1	1	2	2	2	2	1
			P2	2	1	2	2	1	1	2	2	1
			P3	2	2	1	2	2	2	2	2	2
			P4	2	2	3	2	3	3	2	2	2
			P5	1	1	1	1	1	2	2	2	2
	T3	J	P1	3	2	2	3	3	3	3	2	2
			P2	3	3	4	4	4	4	4	3	2
			P3	2	2	2	4	3	3	4	3	3
			P4	3	3	3	3	4	3	3	3	2
			P5	2	2	2	2	3	3	4	3	3
III	T5	K	P1	2	2	3	2	3	3	3	4	4
			P2	3	3	3	3	3	3	3	4	3
			P3	4	4	5	5	4	3	4	4	3
			P4	2	2	3	3	3	3	4	5	4
			P5	2	2	2	3	4	4	4	4	4
	T1	L	P1	2	2	2	2	3	3	3	3	2
			P2	3	3	3	2	2	2	2	2	2
			P3	2	2	2	3	3	3	2	3	3
			P4	3	3	3	4	3	2	2	2	2
			P5	2	2	2	2	2	2	3	1	2
	T2	M	P1	2	2	3	3	3	2	2	3	2
			P2	1	1	1	1	2	2	2	2	2
			P3	2	2	3	2	2	2	2	3	1
			P4	2	2	3	2	1	1	1	2	2
			P5	3	2	2	3	2	2	2	2	2
	T3	N	P1	3	2	3	3	4	3	3	2	4
			P2	1	1	1	1	2	3	2	2	1
			P3	2	2	3	3	3	3	3	2	2
			P4	2	2	3	2	3	3	3	2	2
			P5	2	2	2	3	3	2	3	2	3
T4	Ñ	P1	2	2	3	3	4	4	3	3	4	
		P2	3	3	3	4	4	3	3	3	3	
		P3	2	2	3	4	3	3	2	3	2	
		P4	2	2	2	3	3	3	3	2	2	
		P5	2	3	2	3	2	2	3	2	2	

*Anexo 03.**Cuadro 13: Medidas del diámetro micelial del hongo en mm*

TRATAMIENTOS	REPETICIONES	DIAMETRO EN MM			
		SIEMBRA 25/01/2024	29/01/2024 4 DIA	1/02/2024 7 DIA	4/02/2024 10 DIA
T1	R1	14.76	20.37	22.49	20.95
	R2	14.76	18.20	21.07	21.94
	R3	14.76	14.76	21.10	21.99
	R4	14.76	15.06	20.11	21.49
T2	R1	14.76	19.38	26.27	32.01
	R2	14.76	20.70	27.99	34.88
	R3	14.76	18.52	25.83	32.40
	R4	14.76	17.55	24.87	30.84
T3	R1	14.76	21.07	34.12	44.61
	R2	14.76	21.19	33.07	44.17
	R3	14.76	21.94	34.94	45.96
	R4	14.76	22.23	34.23	46.38
T4	R1	14.76	31.56	46.30	68.95
	R2	14.76	31.65	45.41	68.99
	R3	14.76	32.60	45.10	69.98
	R4	14.76	32.46	45.37	68.89
T5	R1	14.76	44.59	73.96	90.24
	R2	14.76	45.24	74.59	91.04
	R3	14.76	44.73	77.20	90.52
	R4	14.76	44.80	74.69	91.28

*Anexo 04.***Cuadro 14: Porcentaje de Inhibición Micelial del Hongo**

TRATAMIENTOS	REPETICIONES	PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO MICIAL DEL HONGO		
		29/01/2024 4 DIA	1/02/2024 7 DIA	4/02/2024 10 DIA
T1	R1	54.32%	69.59%	76.78%
	R2	59.77%	71.75%	75.90%
	R3	67.00%	72.67%	75.71%
	R4	66.38%	73.08%	76.46%
T2	R1	56.54%	64.48%	64.53%
	R2	54.24%	62.47%	61.69%
	R3	58.60%	66.54%	64.21%
	R4	60.83%	66.70%	66.21%
T3	R1	52.75%	53.87%	50.57%
	R2	53.16%	55.66%	51.48%
	R3	50.95%	54.74%	49.23%
	R4	50.38%	54.17%	49.19%
T4	R1	29.22%	37.40%	23.59%
	R2	30.04%	39.12%	24.22%
	R3	27.12%	41.58%	22.69%
	R4	27.54%	39.26%	24.53%
T5	R1	0.00%	0.00%	0.00%
	R2	0.00%	0.00%	0.00%
	R3	0.00%	0.00%	0.00%
	R4	0.00%	0.00%	0.00%

*Anexo 05.**Cuadro 15: Porcentaje de crecimiento micelial del hongo*

TRATAMIENTOS	REPETICIONES	PORCENTAJE DE CRECIMIENTO MICELIAL DEL HONGO		
		29/01/2024 4 DIA	1/02/2024 7 DIA	4/02/2024 10 DIA
T1	R1	45.68%	30.41%	23.22%
	R2	40.23%	28.25%	24.10%
	R3	33.00%	27.33%	24.29%
	R4	33.62%	26.92%	23.54%
T2	R1	43.46%	35.52%	35.47%
	R2	45.76%	37.53%	38.31%
	R3	41.40%	33.46%	35.79%
	R4	39.17%	33.30%	33.79%
T3	R1	47.25%	46.13%	49.43%
	R2	46.84%	44.34%	48.52%
	R3	49.05%	45.26%	50.77%
	R4	49.62%	45.83%	50.81%
T4	R1	70.78%	62.60%	76.41%
	R2	69.96%	60.88%	75.78%
	R3	72.88%	58.42%	77.31%
	R4	72.46%	60.74%	75.47%
T5	R1	100.00%	100.00%	100.00%
	R2	100.00%	100.00%	100.00%
	R3	100.00%	100.00%	100.00%
	R4	100.00%	100.00%	100.00%

Anexo 06.

Figura 57

Haba Variedad verde Anta



Figura 58

Mancha chocolate en haba



Figura 59

Semillas de Quinoa variedad Amarillo Marangani



Figura 60

Extracción por lavado de saponina



Figura 61

Finalización de crecimiento de cultivo de haba e inicio de maduración



Figura 62

Finalización de maduración de vainas



Figura 63

Pesado de papa para preparación de PDA

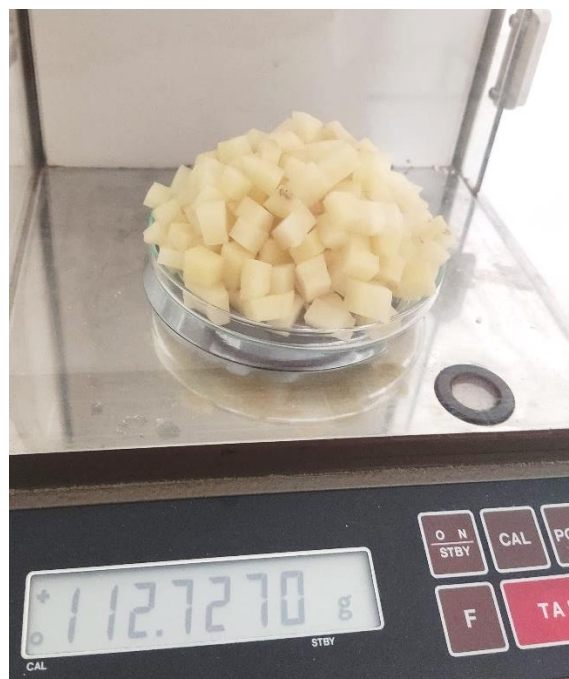


Figura 64

Pesado de Dextrosa para preparación de PDA

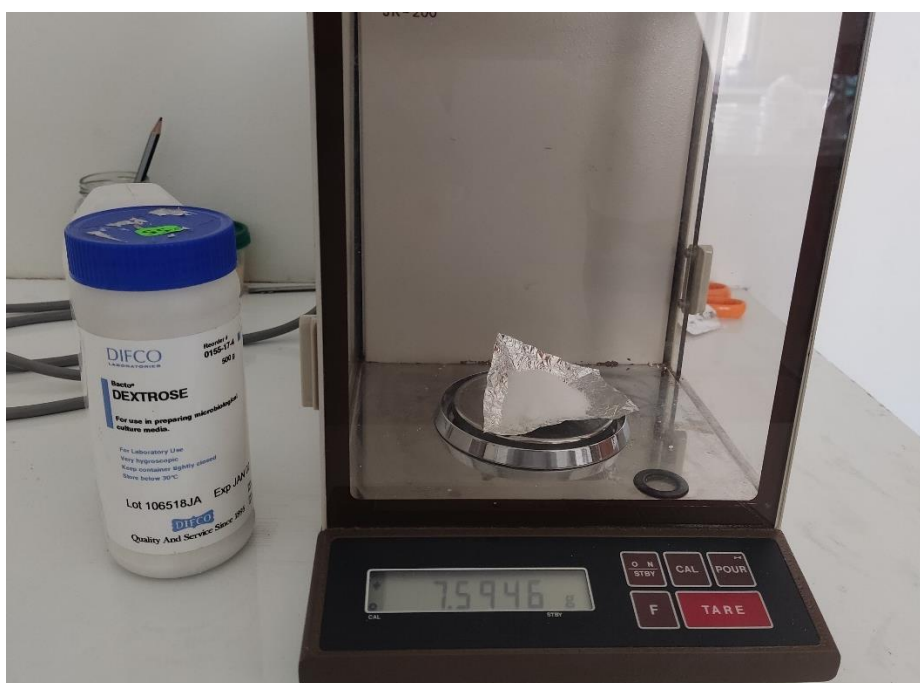


Figura 65

Pesado de Agar – Agar para preparación de PDA



Figura 66

Preparación del Agar PDA



Figura 67

Esterilización del material vegetal



Figura 68

Proceso de esterilización en autoclave del medio de cultivo



Figura 69

Conidios de Botrytis fabae

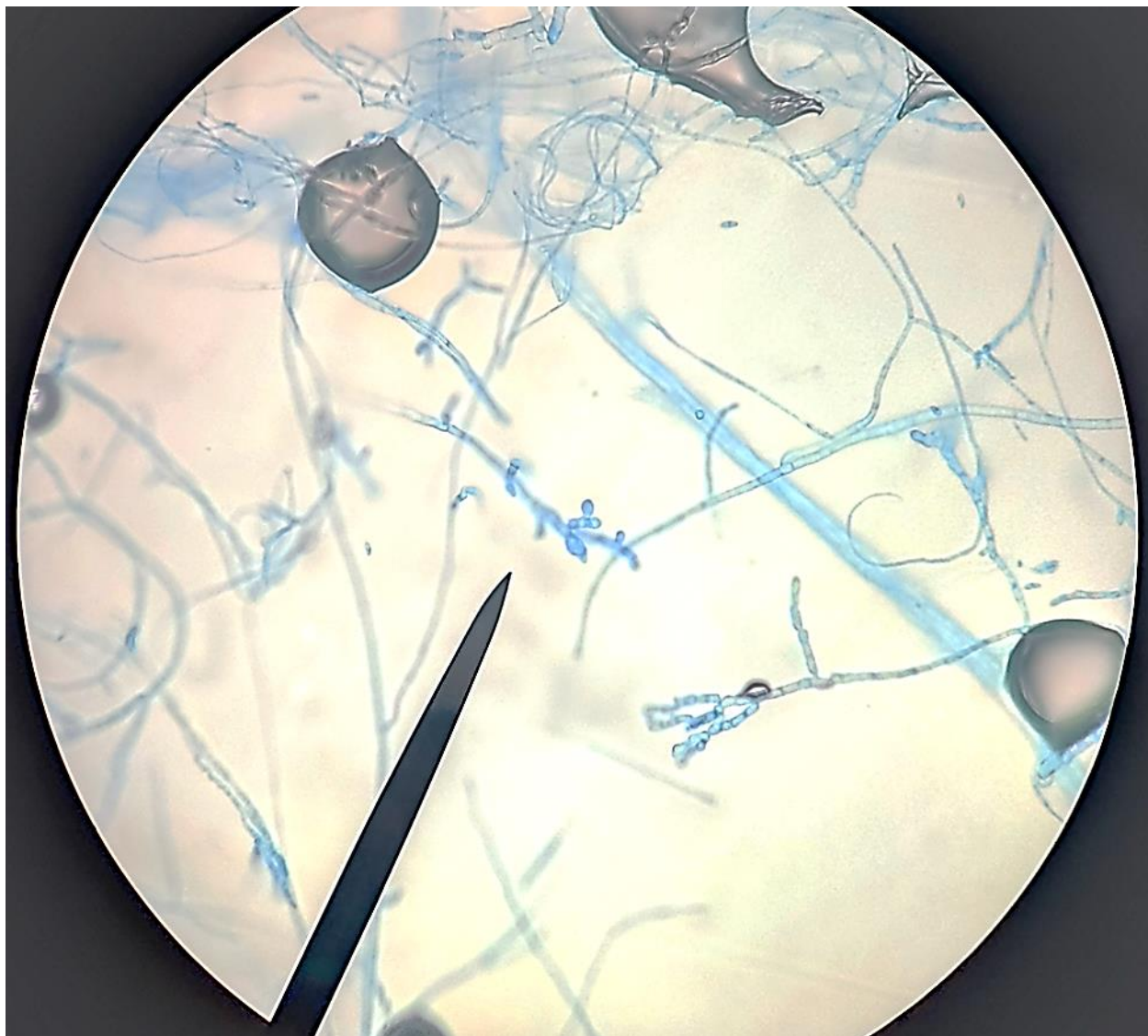


Figura 70

Septas presentes en parte terminal de los conidióforos

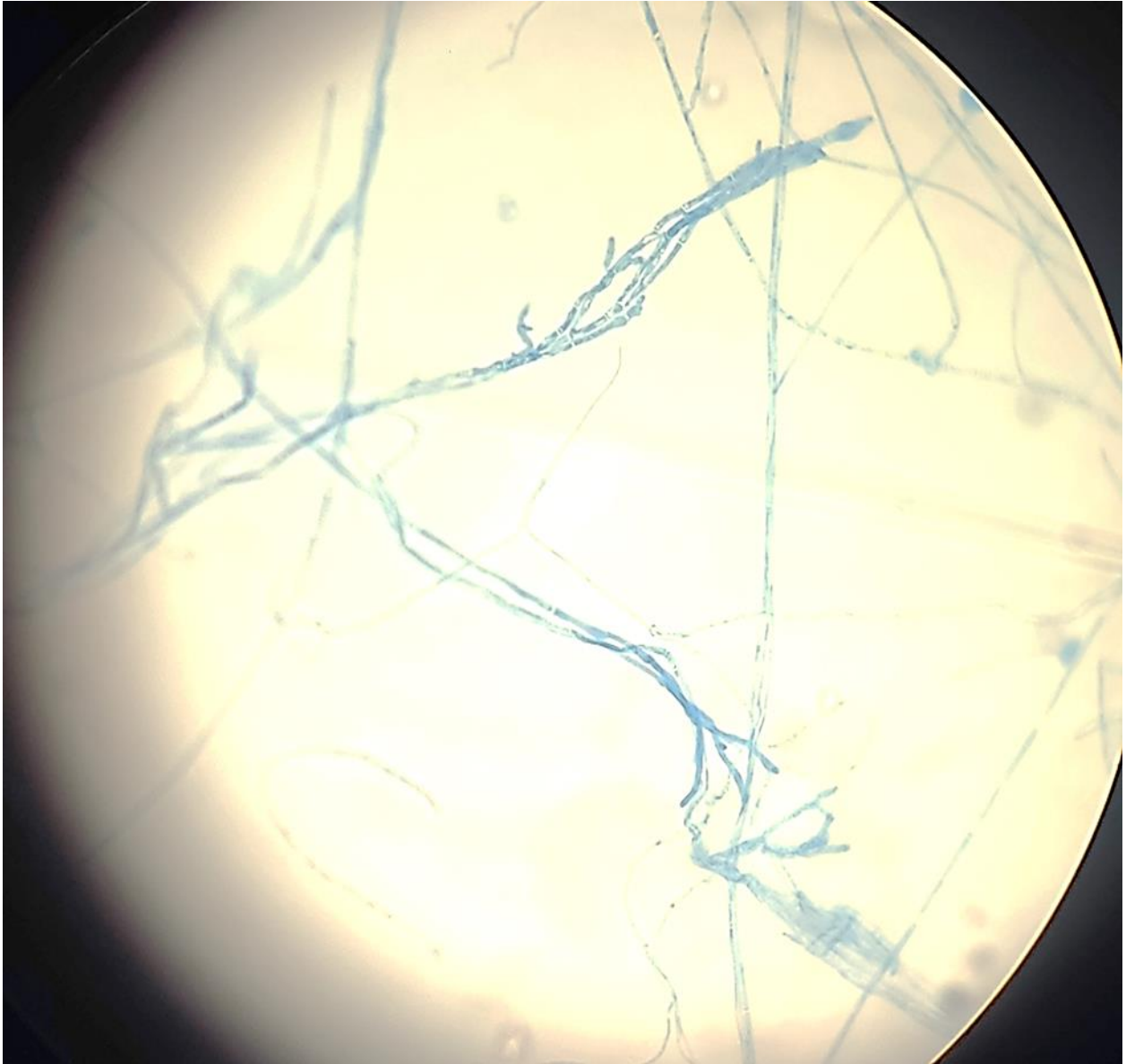


Figura 71

Conidios y conidióforos de *Botrytis fabae*

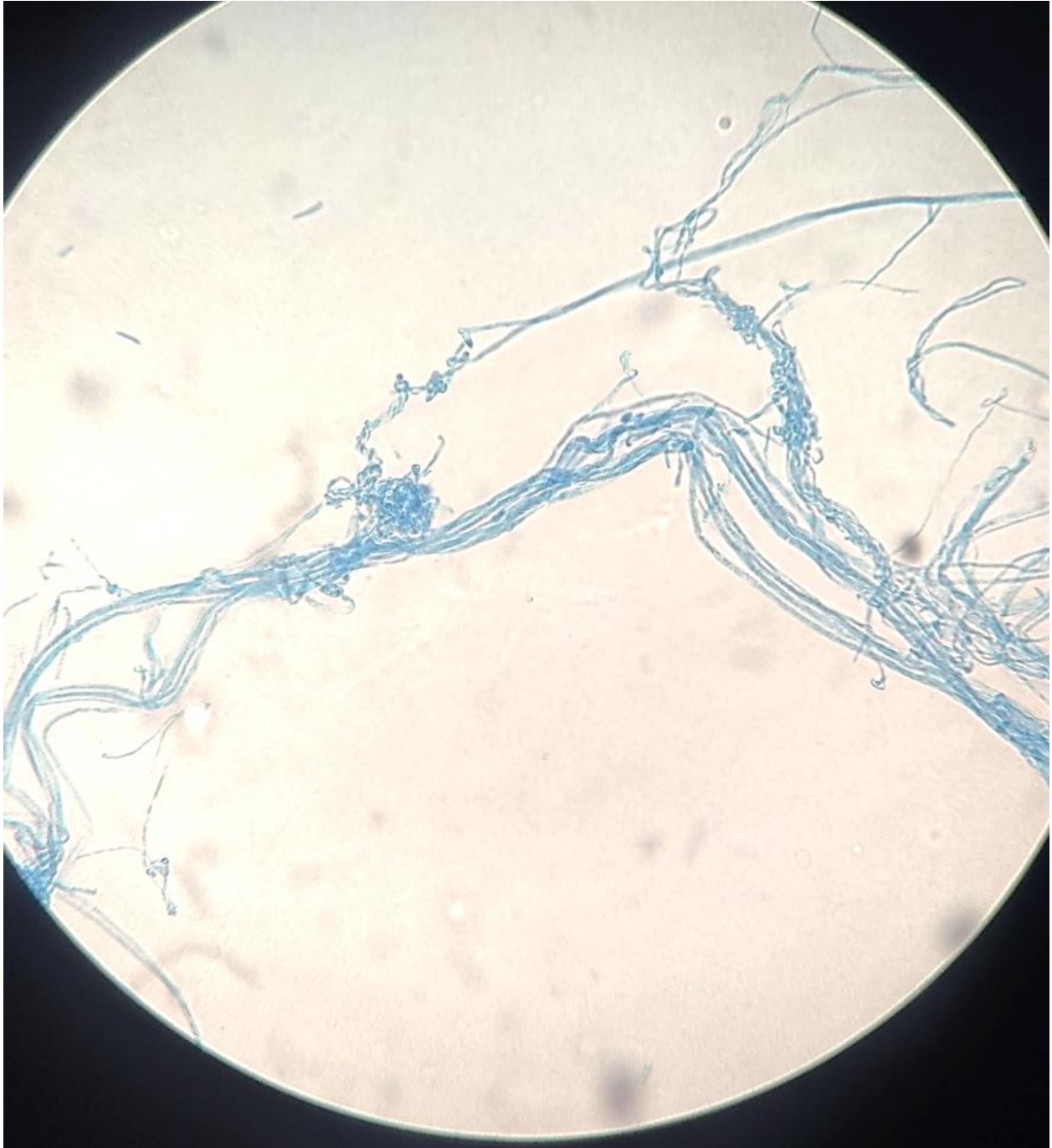


Figura 72

Medición del diámetro de crecimiento de *Botrytis fabae*

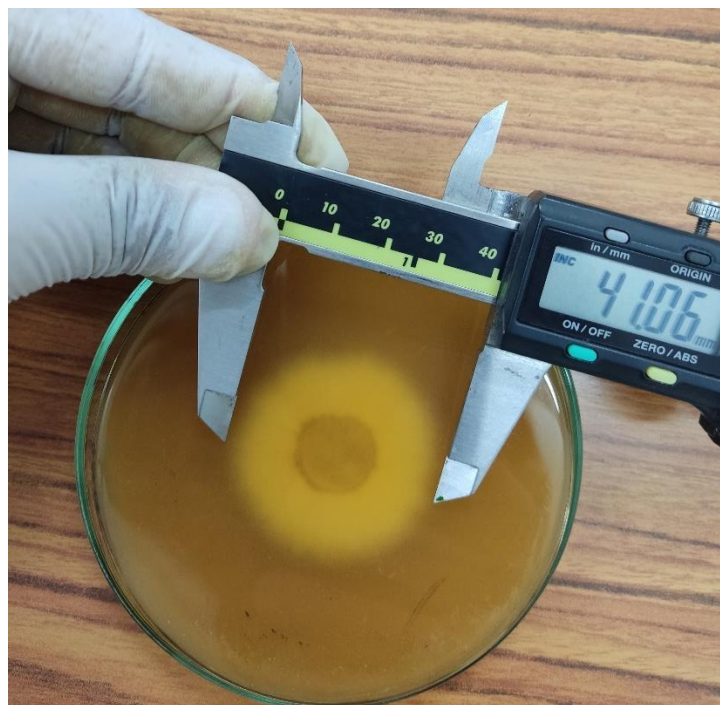


Figura 73

Hongo *Botrytis fabae* en medio de cultivo PDA



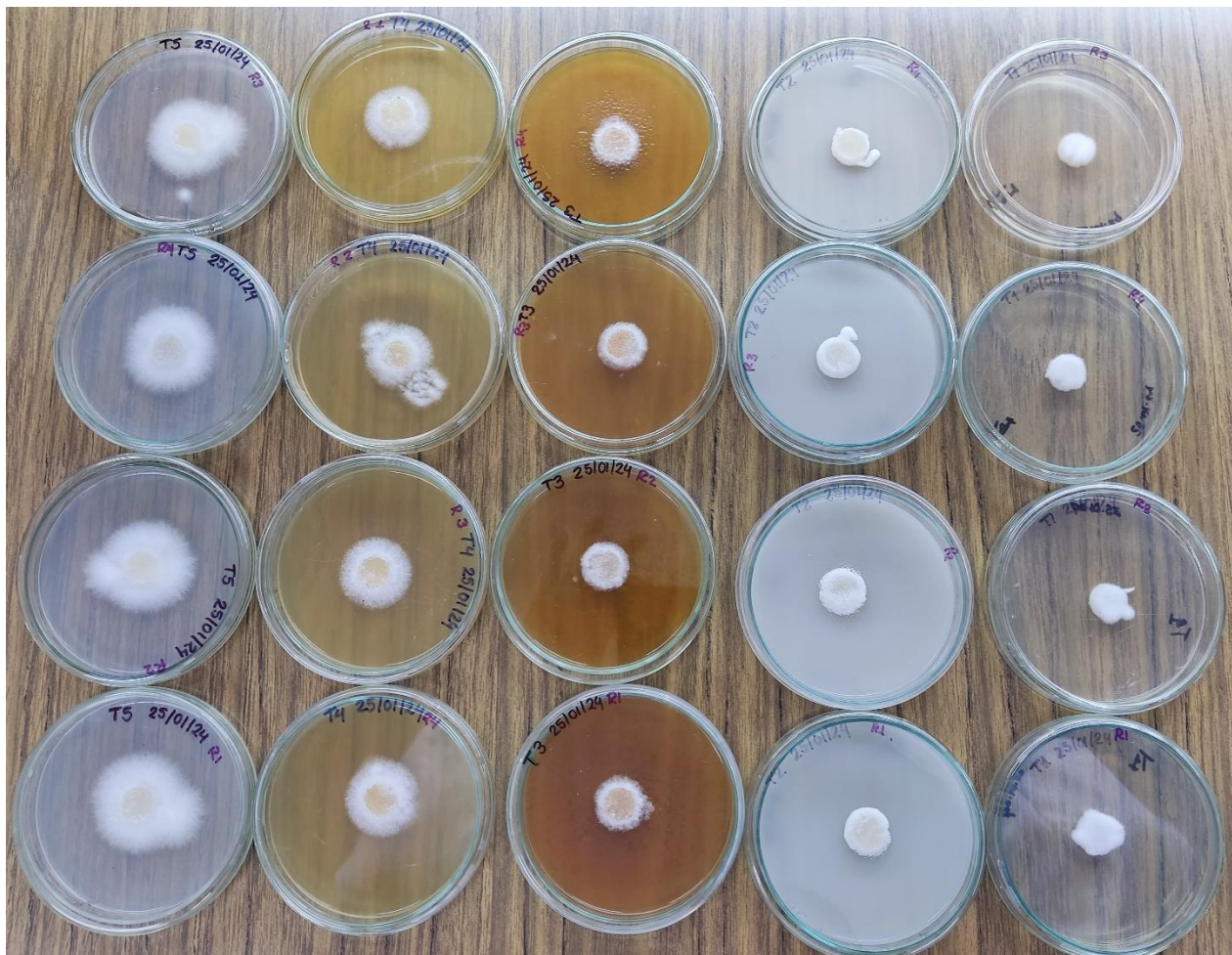
Figura 74**Crecimiento del hongo al cuarto día**

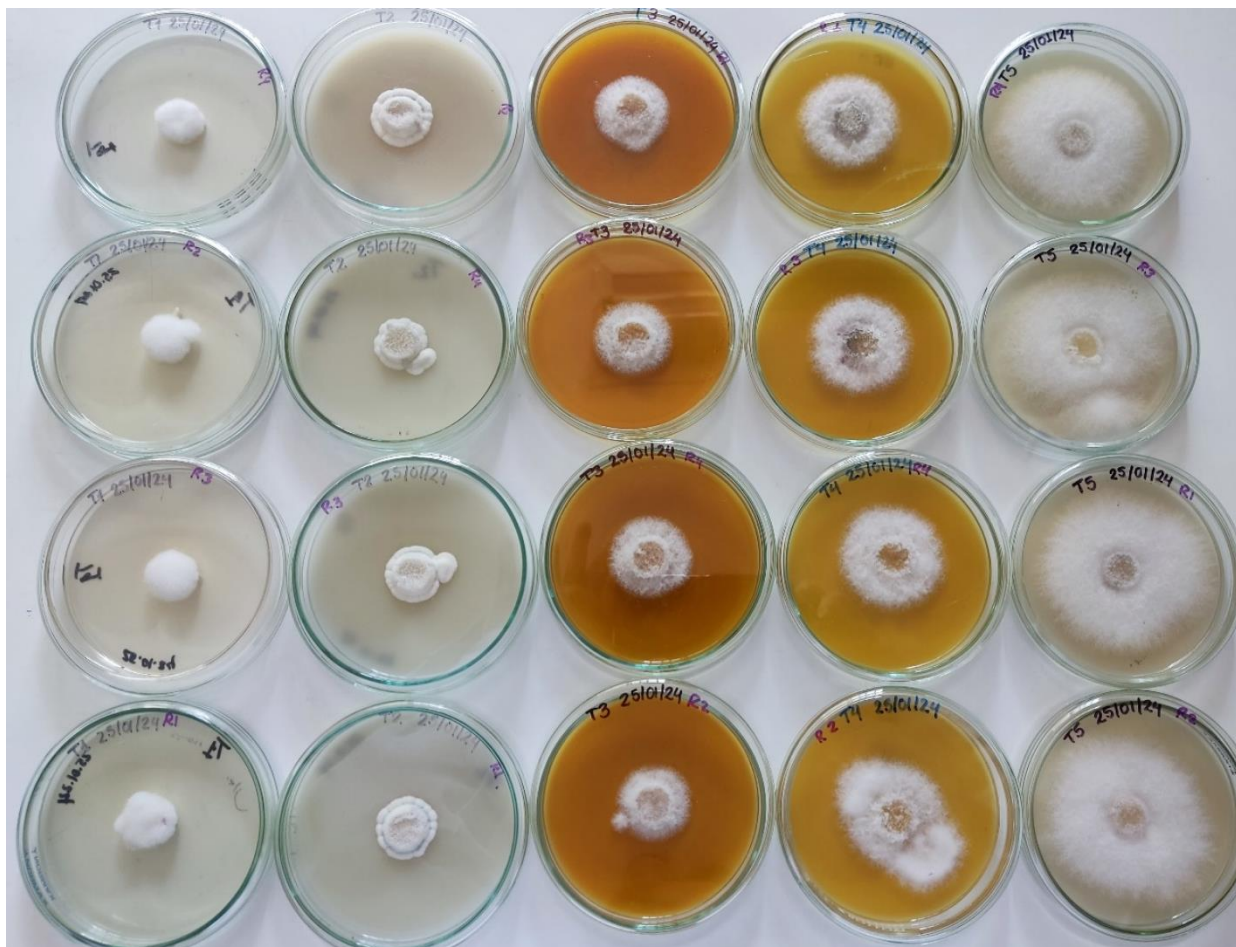
Figura 75**Crecimiento del hongo al séptimo día**

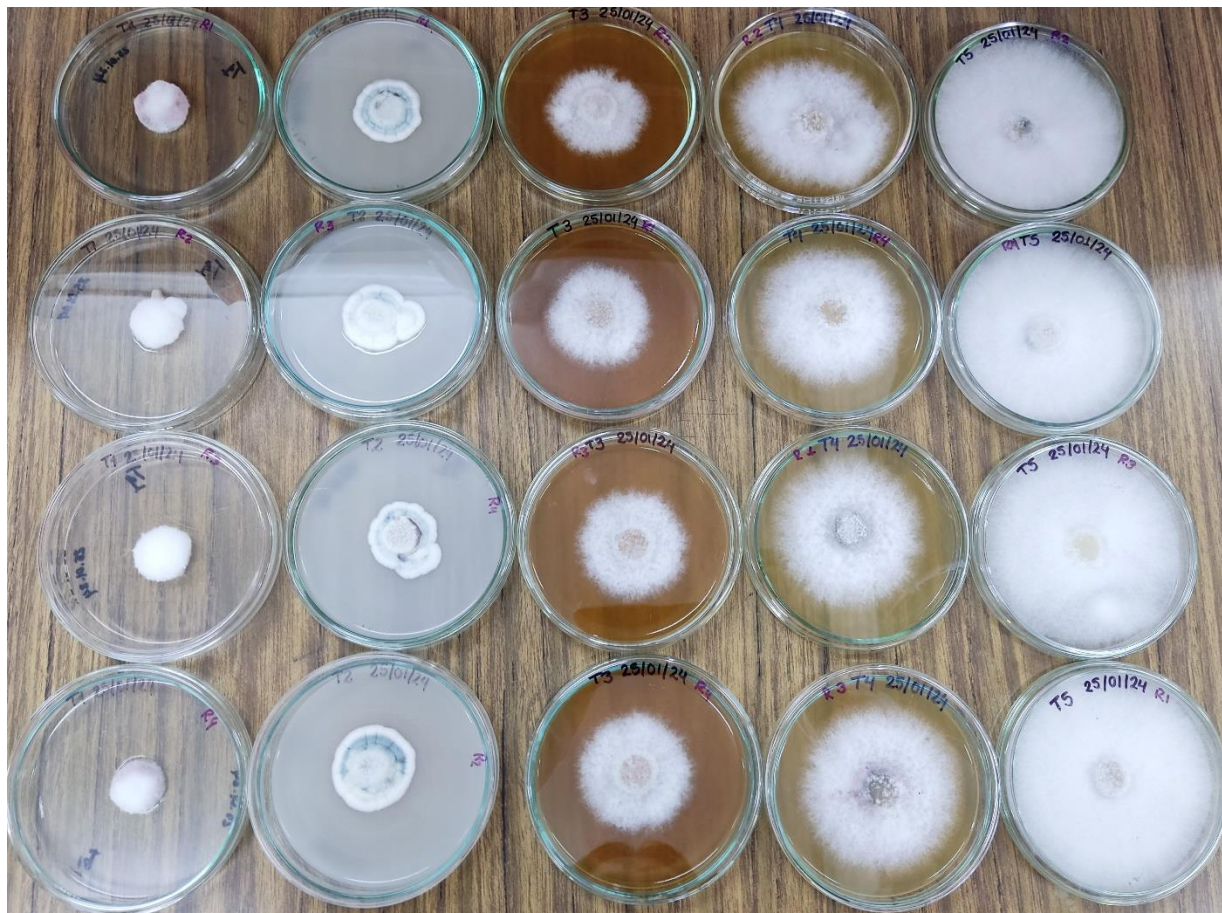
Figura 76**Crecimiento del hongo al décimo día**

Figura 77

Identificación de mancha chocolate en hojas de haba en Laboratorio de Entomología de la Facultad de Agronomía y Zootecnia



Figura 78

Evaluación de resultados en Laboratorio de Biotecnología de la Facultad Ciencias Biológicas

