

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI



FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERÍA EN DESARROLLO INTEGRAL AGROPECUARIO

Tema: “Concentración de saponinas en hojas de cabuya negra (*Agave americana* Linneo) afectadas sanitariamente; en la parroquia Tulcán provincia del Carchi.”

Trabajo de titulación previa la obtención del
título de Ingeniero en Desarrollo Integral Agropecuario

AUTOR: Vizcaíno Goyes Diego Javier

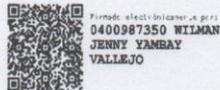
TUTORA: Yambay Vallejo Wilman Jenny, Dra.

Tulcán, 2021

CERTIFICADO JURADO EXAMINADOR

Certificamos que el estudiante Vizcaíno Goyes Diego Javier con el número de cédula 0401733191 ha elaborado el trabajo de titulación: “Concentración de saponinas en hojas de cabuya negra (*Agave americana* Linneo) afectadas sanitariamente; en la parroquia Tulcán provincia del Carchi.”

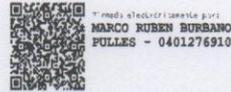
Este trabajo se sujeta a las normas y metodología dispuesta en el Reglamento de Titulación, Sustentación e Incorporación de la UPEC, por lo tanto, autorizamos la presentación de la sustentación para la calificación respectiva.



f.....

Yambay Vallejo Wilman Jenny, Dra.

TUTORA



f.....

Burbano Pulles Marco Rubén, MSc.

LECTOR

Tulcán, febrero de 2021

AUTORÍA DE TRABAJO

El presente trabajo de titulación constituye requisito previo para la obtención del título de **Ingeniero** en la Carrera de ingeniería en desarrollo integral agropecuario de la Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales

Yo, Vizcaíno Goyes Diego Javier con cédula de identidad número 0401733191 declaro: que la investigación es absolutamente original, auténtica, personal y los resultados y conclusiones a los que he llegado son de mi absoluta responsabilidad.



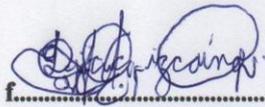
AUTOR

Vizcaíno Goyes Diego Javier

Tulcán, febrero de 2021

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Vizcaíno Goyes Diego Javier declaro ser autor de los criterios emitidos en el trabajo de investigación: "Concentración de saponinas en hojas de cabuya negra (*Agave americana* Linneo) afectadas sanitariamente; en la parroquia Tulcán provincia del Carchi." y eximo expresamente a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.



Vizcaíno Goyes Diego Javier
AUTOR

Tulcán, febrero de 2021

AGRADECIMIENTO

A Dios por la vida y su amor.

A mi amada familia: mis padres por la vida y su amor incondicional, su ejemplo de trabajo y honestidad; mis hermanas, hermanos, sobrinos, tíos, primos por su ayuda incondicional.

A mi tutora Dra. Jenny Yambay, y lector MSc. Marco Burbano por su aporte técnico y ayuda para la realización y culminación exitosa del presente trabajo de titulación.

A la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, sus autoridades, docentes y personal de administrativo y de servicio, en la persona Dr. Hugo Ruíz, ex - Rector - fundador de la UPEC, y en la persona del Ph. D. Jorge Mina, actual Rector de la UPEC y ex - Decano de la FIACA, por la formación recibida y por permitirme ser copartícipe del ejemplar progreso de la UPEC como Institución de Educación Superior de excelencia y calidad en Ecuador que crea oportunidades y horizontes promisorios de libertad y desarrollo para nuestra región.

Al MSc. Ángel Pozo por su importante ayuda en el campo de la Fitopatología.

Al Ph. D. Luis Parra por los conocimientos compartidos acerca del agave y sobre la necesidad e importancia de realizar su explotación sustentable.

Al Ph. D. Enrique Martínez Reyes por compartir sus conocimientos sobre Fitopatología.

A la Ph. D. Judith García y al MSc. Fausto Montenegro por su valiosa ayuda en el campo estadístico.

A mis profesores por su aporte profesional de calidad y calidez a mi formación.

A los investigadores, quienes con sus valiosos aportes científicos previos, permitieron idear, explicar y comprender esta investigación.

A las demás personas e instituciones que contribuyeron a la realización de la presente investigación.

A mis amigas y amigos.

DEDICATORIA

A Dios.

A mi amada familia.

ÍNDICE

I. PROBLEMA.....	14
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	14
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	14
1.3. JUSTIFICACIÓN	14
1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	16
1.4.1. Objetivo general.....	16
1.4.2. Objetivos específicos	16
1.4.3. Preguntas de investigación	16
II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	17
2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	17
2.2. MARCO TEÓRICO	18
2.2.1. El género <i>Agave</i>	18
2.2.1.1. <i>A. americana</i> L.	18
2.2.1.1.1. Clasificación taxonómica.....	18
2.2.1.1.2. Descripción de <i>A. americana</i> L.	19
2.2.1.1.3. Requerimientos del cultivo de <i>A. americana</i> L. según el nivel de potencial agroclimático.	21
2.2.1.1.4. <i>A. americana</i> L. en Ecuador	21
2.2.1.1.5. Enfermedades foliares de <i>A. americana</i> L.....	22
2.2.2. <i>Phyllosticta</i> spp.....	23
2.2.3. Saponinas.....	24
2.2.3.1. Biosíntesis de saponinas esteroideas	27
2.2.3.2. Saponinas en hojas de <i>A. americana</i> L.	28
2.2.3.2.1. Sapogeninas en hojas de <i>A. americana</i> L.	29
2.2.3.3. Influencia de los factores ambientales abióticos sobre el contenido de saponinas en las plantas.....	29
2.2.3.4. Influencia de los factores ambientales bióticos sobre el contenido de saponinas en las plantas.....	30

2.2.4. Defensa de la planta frente a enfermedades.....	30
2.2.4.1. Concepto de enfermedad en las plantas	30
2.2.4.2. Desarrollo de la enfermedad en las plantas	30
2.2.4.3. Efecto de los patógenos sobre la fotosíntesis	34
2.2.4.4. Reconocimiento entre el hospedante y el patógeno	34
2.2.4.5. Fitoanticipinas – fitoalexinas	36
2.2.4.5.1. Saponinas y su relación con la sanidad de la planta.....	37
2.2.4.5.2. Liberación de saponinas en respuesta al ataque de hongos.....	38
2.2.5. Cuantificación de enfermedades	38
III. METODOLOGÍA	39
3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO	39
3.1.1. Enfoque.....	39
3.1.2. Tipo de investigación	39
3.2. HIPÓTESIS	39
3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	40
3.4. MÉTODOS UTILIZADOS	41
3.4.1. Caracterización del área de estudio.	41
3.4.2. Diagnóstico de enfermedades foliares.....	41
3.4.3. Determinación de los estadios de afectación foliar por <i>Phyllosticta</i> sp.	42
3.4.4. Toma de muestras para la determinación de la concentración de saponinas.	42
3.4.5. Determinación de la concentración de saponinas	44
3.4.6. Análisis estadístico	44
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
4.1. RESULTADOS	46
4.2. DISCUSIÓN	48
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	50
5.1. CONCLUSIONES	50
5.2. RECOMENDACIONES	50
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
VII. ANEXOS.....	55

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Planta de <i>A. americana</i> L., de la región de Comitán, Chiapas.....	20
<i>Figura 2.</i> Caracteres morfológicos de <i>A. americana</i> L. en la región de Comitán, Chiapas.	20
<i>Figura 3.</i> Localización de iniciativas productivas con Agaveae (<i>A. americana</i> L. y <i>Furcraea andina</i>) en Ecuador.....	22
<i>Figura 4.</i> Ejemplo de saponina esteroidal.....	25
<i>Figura 5.</i> Esqueletos de aglicona representativos de saponinas esterooidales.....	26
<i>Figura 6.</i> Síntesis de saponinas esterooidales en plantas.....	27
<i>Figura 7.</i> El triángulo de las enfermedades.....	32
<i>Figura 8.</i> Haz de hojas de <i>A. americana</i> L. infectadas por <i>Phyllosticta</i> sp.....	41
<i>Figura 9.</i> Envés de hojas de <i>A. americana</i> L. infectadas por <i>Phyllosticta</i> sp.....	42
<i>Figura 10.</i> Comportamiento de la concentración de saponinas en hojas de <i>A. americana</i> L. infectadas por <i>Phyllosticta</i> sp. en varios estadios de la enfermedad.....	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Clasificación taxonómica de la cabuya negra (A. americana L.)</i>	19
Tabla 2. <i>Requerimientos del cultivo de A. americana L. según el nivel de potencial agroclimático</i>	21
Tabla 3. <i>Enfermedades del cultivo de fibra A. americana L. en India</i>	23
Tabla 4. <i>Clasificación taxonómica del género Phyllosticta</i>	23
Tabla 5. <i>Contenido de saponina de algunos materiales vegetales seleccionados</i>	25
Tabla 6. <i>Saponinas en hojas de A. americana L.</i>	28
Tabla 7. <i>Sapogeninas en hojas de A. americana L.</i>	29
Tabla 8. <i>Escala cualitativa convencional para las hojas de A. americana L. afectadas por el hongo fitopatógeno Phyllosticta sp. en base a los síntomas presentados en el haz</i>	43
Tabla 9. <i>Concentración de saponinas totales en hojas de A. americana L. infectadas por Phyllosticta sp. en varios estadios de la enfermedad</i>	46
Tabla 10. <i>Estadísticos descriptivos de la concentración de saponinas totales en hojas de A. americana L. infectadas por Phyllosticta sp.</i>	46
Tabla 11. <i>Prueba de ANOVA en Bloques Completos al Azar para la concentración de saponinas en hojas de A. americana L. infectadas por Phyllosticta sp. en varios estadios de la enfermedad</i>	47
Tabla 12. <i>Prueba DHS de Tukey para la concentración de saponinas en hojas de A. americana L. infectadas por Phyllosticta sp. en varios estadios de la enfermedad</i>	47

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Datos de clima y precipitación en la estación meteorológica Tulcán El Rosal.	55
Anexo 2: Certificados de diagnóstico confirmatorio de <i>Phyllosticta</i> sp. y de análisis bacteriológico en hojas de <i>A. americana</i> L. de la parroquia Tulcán de la provincia del Carchi.	56
Anexo 3: Resultados del análisis de laboratorio: Concentración de Saponinas Totales en hojas de <i>A. americana</i> L. infectadas por <i>Phyllosticta</i> sp., en la parroquia Tulcán de la provincia del Carchi.....	57
Anexo 4: Certificado o Acta del Perfil de Investigación.....	60
Anexo 5: Certificado del abstract por parte de idiomas	60
Anexo 6: Acta de la sustentación de predefensa del informe de investigación.....	63

RESUMEN

El objeto de la presente investigación fue comparar la concentración de saponinas en las hojas de *A. americana* L. entre los diferentes estadios de su afectación sanitaria. En la parroquia Tulcán, Carchi, Ecuador se diagnosticó en *A. americana* L. una sola enfermedad foliar con alta incidencia, causada por *Phyllosticta* sp. Se elaboró una escala cualitativa convencional de los estadios de dicha enfermedad, para realizar la toma de muestras. Se seleccionaron seis plantas, de cada una de ellas se tomó una hoja por estadio. Se determinó la concentración de saponinas totales en laboratorio mediante el método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución equipado con Detector de Fotodiodos (HPLC-PDA). Se analizaron estadísticamente los resultados con el software Statistix Versión 10.0. Se aplicó la prueba de Análisis de Varianza (ANOVA) en Bloques Completos al Azar (BCA) para probar las hipótesis a un nivel de significación del 5%. Para las comparaciones múltiples se realizó la prueba Diferencia Significativa Honesta (DSH) a un nivel de significación del 5%. La concentración de saponinas en las hojas de *A. americana* L. varió con la afectación por *Phyllosticta* sp.; sin embargo, dicha variación no presentó diferencias estadísticamente significativas respecto a las hojas sin síntomas (Estadio 1). La concentración media de saponinas totales fue de 2,83 g de Diosgenina/kg de muestra seca.

Palabras clave: saponinas, *Phyllosticta* sp., *Agave americana* L.

ABSTRACT

This research was done in the parish of Tulcán, Carchi, Ecuador and its aim was to compare the concentration of saponins in the *A. americana* L. leaves on different stages of its sanitary affectation. A single leaf disease with high incidence was diagnosed in *A. americana* L. caused by *Phyllosticta* sp. A conventional qualitative scale of the stages of this disease was developed to perform the sampling. Six plants were selected from which one leaf per stage was taken. The concentration of total saponins was determined in the laboratory using the High-Resolution Liquid Chromatography method equipped with a Photodiode Detector (HPLC-PDA). The results were statistically analyzed with Statistix Version 10.0 software. The Analysis of Variance (ANOVA) test was applied to the Randomized Complete Block (RCB) to test the hypotheses at a significance level of 5%. For multiple comparisons, the Honest Significant Difference (HSD) test was performed at a significance level of 5%. The concentration of saponins in the leaves of *A. americana* L. varied with the affectation by *Phyllosticta* sp.; however, this variation did not present statistically significant differences with respect to the leaves without symptoms (Stage 1). The average concentration of total saponins was 2.83 g of Diosgenin/kg of dry sample.

Key words: saponins, *Phyllosticta* sp., *Agave americana* L.

INTRODUCCIÓN

I. PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

“*Agave* spp. ... se encuentran de forma silvestre en las pendientes de los cerros o semi-cultivadas o en los filos de terrenos de gran parte del valle interandino de los Andes ecuatorianos” (Parra, 2016, p. 142). Adicionalmente, el número de plantas de *A. americana* L. en Ecuador ha venido disminuyendo en los últimos años debido a que se replanta muy poco, al daño de su hábitat por la apertura de nuevos caminos, y a la erosión cultural presente en torno a la planta (de la Torre, Cummins, & Logan-Hines, 2018). En la parroquia Tulcán de la provincia del Carchi - Ecuador, en los últimos años, las plantas de *A. americana* L. se presentan casi en su totalidad como linderos de terrenos, o en forma silvestre; allí reciben escaso o ningún control fitosanitario ante el ataque microbiano; además dichas plantas se reproducen sexualmente y mueren, sin ser aprovechadas.

Las hojas de *A. americana* L. poseen saponinas (Nasri & Ben Salem, 2012). En otras especies vegetales “la concentración de saponinas ha sido reportada incrementada en respuesta al ataque microbiano” (Osbourn, Bowyer, & Daniels, 1996, p. 547). Al extrapolar este hecho a *A. americana* L., surge la interrogante de si se produce una variación en la concentración de saponinas en sus hojas enfermas.

En resumen, el problema radica en que existe escasa o nula información acerca de la variación (incremento) en la concentración de las saponinas en las hojas enfermas de *A. americana* L.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿La concentración de saponinas varía en hojas de cabuya negra (*A. americana* L.) afectadas sanitariamente?

1.3. JUSTIFICACIÓN

Esta investigación es necesaria puesto que permite conocer cómo varía la concentración de saponinas en las hojas de *A. americana* L. cuando dichas plantas presentan afectación sanitaria. Los resultados permiten respaldar la toma de decisiones en el manejo técnico de las plantas de *A. americana* L. en torno a la afectación sanitaria detectada en el presente estudio. Con dicha información, se busca sentar criterios para la selección de la materia prima (hojas de *A. americana* L.) con la mayor concentración posible de saponinas útiles para la

agroindustria. Por otra parte, la recolección de muestras en campo, intrínsecamente implica el desarrollo de escalas de evaluación de cada enfermedad con alta incidencia presente en las hojas de *A. americana* L.

El contexto que justifica a la presente investigación es que “La creciente demanda de productos vegetales que contengan saponinas requiere una racionalización del manejo de los existentes recursos naturales en anticipación a su continuada disminución” (Szakiel, Pączkowski, & Henry, 2011a, p. 488). Además, las saponinas poseen propiedades surfactantes (Sparg, Light, & van Staden, 2004). También, “poseen actividad antimicrobiana, fungicida, insecticida, molusquicida y antiparasítica” (Yang et al., 2014, p. 138). “Algunos de estos compuestos fueron informados de tener diferentes actividades farmacológicas – potente antiinflamatorio, antihipertensivo, anti cáncer...” (Ghoghari & Rajani, 2006, p. 113).

“Las saponinas son consideradas como una alternativa de excelentes posibilidades comerciales y de industrialización debido a su alto precio en el mercado... de acuerdo a su nivel de pureza desde 6 hasta 142 dólares por gramo de producto” (Benavides, Arango, Hurtado, & Rojas, 2012, p. 68).

En Ecuador existen varios emprendimientos con *A. americana* L. que han empezado a provocar su escasez en algunas localidades del país; entre los cuales se encuentran la producción de shampoo y ungüento medicinal (de la Torre et al., 2018). Estos dos emprendimientos se relacionan directamente con sus saponinas.

Por lo expuesto, en Ecuador aún no se aprovecha todo el potencial de las saponinas de *A. americana* L., y su demanda creciente implica optimizar su producción.

“Más, los productos de Agaveae... contribuyen al mejoramiento del suelo, previenen la erosión, regeneran los ecosistemas y mitigan el cambio climático a través de la fijación de carbono” (de la Torre et al., 2018, p. 261). Su mishki, incluso ha sido utilizado como agua en lugares de sequía extrema (de la Torre et al., 2018). Así, la incorporación de *A. americana* L. en los cultivos puede ayudar a contrarrestar la problemática de que “En el valle interandino norte del Ecuador, la agricultura comercial basada en monocultivos tiende a hacerse insostenible debido a creciente degradación de suelos y aguas, e inestabilidad en los precios del mercado” (Franco, Peñafiel, Cerón, & Freire, 2016, p.181).

Además, en Ecuador se presenta una alta desigualdad de acceso a la tierra (Sistema de Investigación sobre la Problemática Agraria en el Ecuador [SIPAE], 2011). Por su parte, *A. americana* L. puede reducir los efectos de dicha problemática, pues según Parra (2016) esta especie vegetal prospera incluso en suelos marginales con estrés hídrico. Por tanto, se podría

involucrar en su cultivo a muchos minifundistas y pequeños productores del país, y con ello, contribuir a la generación de plazas de trabajo y al progreso de las comunidades.

Finalmente, esta investigación se realiza en la parroquia Tulcán porque la población de *A. americana* L. ha venido decreciendo en la localidad. Dicha disminución, se explica en parte por el desgaste cultural en torno a esta especie (de la Torre et al., 2018). Así, con el presente estudio se pretende incentivar su cultivo, en especial la explotación de sus saponinas y derivados.

1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1.4.1. Objetivo General

Comparar la concentración de saponinas en hojas de cabuya negra (*A. americana* L.) afectadas sanitariamente; en la parroquia Tulcán provincia del Carchi.

1.4.2. Objetivos Específicos

Realizar el diagnóstico de las enfermedades con alta incidencia en las hojas de *A. americana* L. en la parroquia Tulcán.

Recolectar el material vegetal en base a signo, síntomas y estadios de la enfermedad con mayor incidencia con fines de selección.

Cuantificar la concentración de saponinas totales en las hojas de *A. americana* L. por cada estadio de la enfermedad con mayor incidencia.

1.4.3. Preguntas de Investigación

¿Cuáles son las enfermedades con alta incidencia en las hojas de *A. americana* L. de la localidad en estudio?

¿Cuáles son los estadios de la enfermedad con mayor incidencia en la hojas de *A. americana* L. en la localidad en cuestión?

¿Cuál es la concentración de saponinas en las hojas de *A. americana* L. por cada estadio de la enfermedad con mayor incidencia, en la localidad señalada?

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Peana, Moretti, Manconi, Desole, & Pippia (1996) en su trabajo “Anti-Inflammatory Activity of Aqueous Extracts and Steroidal Sapogenins of *Agave americana* [Actividad Antiinflamatoria de Extractos Acuosos y Sapogeninas Esteroidales de *Agave americana*]” realizado con hojas frescas de *A. americana* L., señalan que:

El contenido de hecogenina (Muestra A: 71,3%, Muestra B: 60,7%) y tigogenina (Muestra A: 10,7%, Muestra B: 10,1%) fueron obtenidos del contenido total de sapogeninas... Las muestras de *A. americana* L. colectadas en el norte de la isla Cerdeña contienen aproximadamente las mismas cantidades de hecogenina y tigogenina que la de las especies que crecen en otros países. (pp. 200-201)

Sidana, Sharma, & Singh (2016) en su revisión “Saponins of *Agave*: Chemistry and bioactivity [Saponinas de *Agave*: Química y bioactividad]” indican que “Debido a su importancia farmacológica, las saponinas esteroideas de *Agave* han llamado la atención de los fitoquímicos, biólogos y científicos descubridores de fármacos... Más de 50 especies de *Agave* han sido investigadas por sus saponinas...” (p. 1). Además, Sidana et al. (2016) mencionan, en las hojas de *A. americana* L., al menos ocho saponinas (más de tres solamente reportadas en hojas de *A. americana* L.) y tres agliconas diferentes (dos solamente reportadas en hojas de *A. americana* L.).

Nasri & Ben Salem (2012) en su investigación titulada “Effect of oral administration of *Agave americana* or *Quillaja saponaria* extracts on digestion and growth of Barbarine female lamb [Efecto de la administración oral de extractos de *Agave americana* o *Quillaja saponaria* sobre la digestión y el crecimiento del cordero hembra Barbarine]” señalaron que en las hojas de *A. americana* L. se encontró una elevada concentración de saponinas.

Ulloa (2018), en su estudio “Evaluación in vitro de la capacidad inhibitoria de saponinas presentes en el penco (*Agave americano*) frente a *Fusarium* sp.” reportó una “concentración de saponinas entre 680 – 1200 mg/kg variación que se da por los diferentes métodos empleados, estableciendo que, por cada kg de materia prima seca empleada de *Agave americano* se obtiene una concentración aproximada de 2000 mg/kg de saponinas” (p.53).

Guleria & Kumar (2009) en su trabajo “Antifungal activity of *Agave americana* leaf extract against *Alternaria brassicae*, causal agent of *Alternaria* blight of Indian mustard (*Brassica juncea*) [Actividad antifúngica del extracto de hoja de *Agave americana* contra *Alternaria brassicae*, agente causal del tizón de *Alternaria* de la mostaza india (*Brassica juncea*)]”

demonstraron el papel principal de las saponinas extraídas de las hojas de *A. americana* L. contra el hongo patógeno *Alternaria brassicae*.

Por otra parte, van Mólken et al. (2014) en su investigación “Consequences of combined herbivore feeding and pathogen infection for fitness of *Barbarea vulgaris* plants [Consecuencias de la alimentación herbívora y la infección por patógeno combinadas para el estado de las plantas de *Barbarea vulgaris*]” reportaron el incremento de la concentración de saponinas a un poco más del doble en *Barbarea vulgaris* ante el ataque del hongo patógeno *Albugo* sp.

Langcake, Drysdale, & Smith (1972) en su estudio “Post-infectious production of an inhibitor of *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* by tomato plants [Producción postinfecciosa de un inhibidor de *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* en plantas de tomate]” reportan que después de la inoculación por *F. oxysporum* f. *lycopersici* a la planta de tomate, en esta última se produce un importante incremento en la cantidad de saponinas, en el tallo y en la raíz de la planta, tanto en una variedad resistente como en una variedad susceptible al ataque del patógeno.

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. El género *Agave*

Las especies del género *Agave* se encuentran distribuidas desde Estados Unidos de América hasta Ecuador. Dicho género comprende 210 especies, de las cuales en México se encuentra el 75 %, 119 son endémicas (Red Temática Mexicana Aprovechamiento Integral Sustentable y Biotecnología de los Agaves [AGARED], 2017).

2.2.1.1. *A. americana* L.

2.2.1.1.1. Clasificación Taxonómica

En la Tabla 1 se muestra la clasificación taxonómica de la planta de cabuya negra (*A. americana* L.).

Tabla 1. *Clasificación taxonómica de la cabuya negra (A. americana L.)*

Jerarquía Taxonómica		
Reino	Plantae	Vegetal
Subreino	Viridiplantae	
Infrareino	Streptophyta	Plantas terrestres
Superdivisión	Embryophyta	
División	Tracheophyta	Plantas vasculares
Subdivisión	Spermatophytina	Plantas con semilla
Clase	Magnoliopsida	
Superorden	Lilianaes	Monocotiledóneas
Orden	Asparagales	
Familia	Asparagaceae	
Género	<i>Agave</i>	Agave
Especie	<i>A. americana</i> L.	

Fuente: Integrated Taxonomic Information System, (2017).

2.2.1.1.2. Descripción de *A. americana* L.

Pertenece al grupo Americanae propuesto por Gentry (1982) y se caracteriza por tener rosetas de hasta dos metros de alto, 2,5-3,0 m de diámetro, hojas de 1,5-2,0 m de largo, 15-25 cm de ancho, lanceoladas, ligeramente espatuladas, erectas y en ocasiones poco curvadas, acanaladas en el haz, glaucas, y de superficie ligeramente áspera y margen ondulado a crenado; dientes sobre mamilas, en la parte media de 0,5-1,0 cm de largo, 0,6-1,2 cm de ancho, rectos o recurvados; espina terminal 3,5-4,0 cm de largo. Inflorescencia paniculada, laxa de 6-9 m alto, contorno general ovalado, fértil desde la mitad o el tercio superior, ramas primarias 20-35, 1-1,2 m largo; pedúnculo verde-glaucos, brácteas del pedúnculo 30-60 cm largo, base hasta 10 cm ancho, triangulares, cactáceas, margen entero, espina 1-1,5 mm largo. Flores 6-7,5 cm largo, hipocrateriformes, verde-amarillentas; tépalos 2,5-3,5 cm largo, oblongos, gruesos, tubo del perigonio 1-1,5 cm largo, ovario 2,5-3 cm largo, cuello 2-5 mm; estambres con filamentos 5,5-8,0 cm largo, insertos en la parte media del tubo. Cápsulas 4,0-5,5 cm largo, 2,0-2,5 cm ancho; semillas 9-10 mm largo, 7-8 mm ancho, negras.

Agave americana es una especie polimórfica con numerosas formas cultivadas en varias regiones del mundo... La variación intraespecífica observada incluye variación en el tamaño de la planta, número y forma de las hojas, disposición de las mismas en el espacio, forma del

margen, tamaño de los dientes, y tamaño de la espina terminal. (Reynoso et al., 2012a, pp. 11-13)

En la Figura 1, se muestra una planta de *A. americana* L.



Figura 1. Planta de *A. americana* L., de la región de Comitán, Chiapas.

Fuente: Reynoso et al., (2012a).

En la Figura 2 se muestran algunas características morfológicas de *A. americana* L.



Figura 2. Caracteres morfológicos de *A. americana* L. en la región de Comitán, Chiapas.

Fuente: Reynoso et al., (2012a).

Los agaves se reproducen de manera sexual y asexual... La mayoría de los agaves se propaga de manera asexual, produciendo clones en diferentes partes de la roseta o la inflorescencia. Los hijuelos se desarrollan en la base de la planta, o mediante estolones emergen a alguna distancia de la planta madre, producen raíces y, con el tiempo, crecen de manera independiente. Los hijuelos intrafoliares se originan entre las hojas de la roseta y se

desarrollan cuando se desprenden de la planta madre o ésta muere. Los bulbilos, en cambio, se originan en la inflorescencia junto a las flores. (García, 2007, pp. 17-18)

Las plantas de *A. americana* L. se caracterizan por poseer una reproducción semélpara (las plantas mueren después de la reproducción sexual) (García, 2007).

2.2.1.1.3. Requerimientos del cultivo de *A. americana* L. según el nivel de potencial agroclimático.

En la Tabla 2 se muestran los principales requerimientos del cultivo de *A. americana* L. Cabe la aclaración de que al no existir investigaciones acerca de los requerimientos agroecológicos de esta especie, los datos presentados se refieren al género *Agave* (Reynoso et al., 2012b).

Tabla 2. *Requerimientos del cultivo de A. americana L. según el nivel de potencial agroclimático*

Variable	Requerimientos/potencial agroecológico		
	Óptimo	Sub-óptimo	Marginal
Temperatura nocturna (°C)	11 a 21	-1 a 11 y 21 a 28	< -1 y > 28
Probabilidad de heladas	< 0,10		> 0,10
Altitud (msnm)	1000 - 2000	600 – 1000 y 2000 - 2500	< 600 y > 2500
Pendiente del terreno (%)	2 - 15	1 – 2 y 15 - 45	< 1 y > 45
Lluvia anual (mm)	600 - 1500	1500 - 1800	< 600 y > 1800

Fuente: Reynoso, López, López, & Ruiz, (2012b).

Respecto al suelo, “los agaves se adaptan a diversos tipos de suelo, sin embargo, bajo manejo comercial prosperan mejor en suelos de textura media, denominados suelos francos, franco-arenosos o franco-arcillosos” (Reynoso et al., 2012b, p. 13).

2.2.1.1.4. *A. americana* L. en Ecuador

A. americana L. junto a *F. andina* son las principales Agaveae en Ecuador (de la Torre et al., 2018). *A. americana* L. en Ecuador se conoce como: cabuya negra, penco, etc. A pesar de que “Como 49 000 km² o el 17 % de la superficie del Ecuador es apta para su cultivo...” (de la Torre et al., 2018, p. 261). Las plantas de *A. americana* L. “se encuentran de forma silvestre

en las pendientes de los cerros o semi-cultivadas o en los filos de terrenos en gran parte del valle interandino” (Parra, 2016, p. 142).

Existen 124 usos que se le han dado a *A. americana* L. en Ecuador, de los cuales en la actualidad son 86, y de estos últimos, 65 se hacen del mishki (jugo extraído del corazón de la planta).

Se registran en Ecuador varios emprendimientos relacionados con *A. americana* L., como son: Mishki, sirope, guarango, licor, artesanías con fibras, arroz de cebada con mishki, artesanías con el escapo floral y el corazón de la planta, productos gourmet con sirope, alcaparras encurtidas, shampoo, vino y ungüento medicinal (de la Torre et al., 2018).

En la Figura 3 se muestra la localización de las iniciativas productivas con Agaveae (*A. americana* L. y *Furcraea andina*) en Ecuador.



Figura 3. Localización de iniciativas productivas con Agaveae (*A. americana* L. y *Furcraea andina*) en Ecuador. 1: Norte, 2: centro y 3: sur sub-regiones de los Andes.

Fuente: de la Torre et al., (2018).

“La importancia que tiene *A. americana* L. en los Andes ecuatorianos es comparable con la que tienen los agaves en México, pero no en otros países andinos donde es usada esporádicamente” (de la Torre et al., 2018, p. 246).

2.2.1.1.5. Enfermedades foliares de *A. americana* L.

Las hojas de *A. americana* L. han sido atacadas por diferentes patógenos alrededor del mundo, así: *Septoria megaspora* Speg. en Argentina (Stevenson, 1926). *Septonema agaves* en

El Salvador (Stevenson, 1946). *Stagonospora gigantea* en Estados Unidos de América (Heald & Wolf, 1911).

En la Tabla 3 se señalan las enfermedades de *A. americana* L., reportadas en India.

Tabla 3. *Enfermedades del cultivo de fibra A. americana L. en India*

Nombre de la enfermedad	Organismo causal
Mancha foliar	<i>Alternaria tenuis</i> auct.
Mancha foliar	<i>Ascochyta</i> sp.
Pudrición foliar	<i>Botryosphaeria agaves</i> (P. HENN.) BUTLER
Mancha foliar	<i>Coniothyria agaves</i> (DUB. & MONT.) PETRAK & SYDOW
Pudrición foliar	<i>Cucurbitaria agaves</i> SYD. & BUTLER
Mancha foliar	<i>Diplodia</i> sp.
Mancha foliar	<i>Microdiplodia agaves</i> (NIESSL) TASS
Mancha foliar	<i>Pleospora bataanensis</i> PETRAK
Saprophyto	<i>Sirodesmium indica</i> CHANDRA & TANDON
Mancha foliar	<i>Fusariella concinna</i> (SYD.) HUGHES
Saprophyto	<i>Rosellinia macrospora</i> MHASKAR & RA

Fuente: Rao, (1977/1978).

2.2.2. *Phyllosticta* spp.

En las hojas de *Agave* sp. se reportó el ataque de *Phyllosticta agaves* en Argelia a inicios del Siglo XX (Maublanc, 1903).

En la Tabla 4 se muestra la clasificación taxonómica para género *Phyllosticta*.

Tabla 4. *Clasificación taxonómica del género Phyllosticta*

Jerarquía Taxonómica	
Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Subfilo	Pezizomycotina
Clase	Dothideomycetes
Orden	Botryosphaerales
Familia	Phyllostictaceae
Género	<i>Phyllosticta</i>

Fuente: Index Fungorum Partnership, (2018).

Las especies de *Phyllosticta* (teleomorfo *Guignardia* Viala & Ravaz) causan síntomas de mancha foliar y enfermedades en frutas en un rango de hospedantes incluidos algunos cultivos

y ornamentales de importancia económica como cítricos, banana, manzana, uvas, arándanos, orquídeas, *Ficus* sp., *Buxus* sp., y arce. (Wikee et al., 2011, pp. 43-44)

Generalmente, las especies de *Phyllosticta* causan lesiones necróticas en hojas, las cuales se caracterizan por ser pequeñas, a menudo de 1-2 mm de diámetro, circulares, café en la mitad y café oscuro o algunas veces rojizas en el margen... Uno hasta más de 10 picnidios son a menudo encontrados en una lesión... Los picnidios en las hojas son usualmente negras, globosas o subglobosas, y semi-sumergidas... Después de la infección por *Phyllosticta* la hoja puede secarse en el centro de la lesión, causando que el tejido infectado se caiga, formando un agujero, y por lo tanto esto se conoce como punto de destino o lugar agujero de tiro. Las manchas foliares a menudo ocurren en hojas vivas en las temporadas tardías seca y húmeda o en invierno en países templados. Hay cuatro tipos de síntomas de mancha foliar - mancha dura, falsa melanosa, mancha de pecas y mancha virulenta. (Wikee et al., 2011, p. 51)

En las zonas infectadas los hongos producen numerosos conidios, los cuales son diseminados por el viento, la lluvia llevada por este último, el agua y los insectos y otros vectores hacia otras plantas, produciendo así más infecciones. En la mayoría de los casos, dichos hongos invernan principalmente en forma de conidios o micelio en las hojas desprendidas o en otros restos vegetales. Sin embargo, algunos de ellos invernan como conidios o micelio en semillas de plantas infectadas, o bien como conidios en el suelo. Cuando infectan a plantas perennes, dichos hongos invernan en forma de micelio en tejidos infectados de esas plantas. (Agrios, 1995, pp. 357-358)

2.2.3. Saponinas

“En la naturaleza, las plantas se protegen del ataque de los patógenos, plagas, y herbívoros secretando varias saponinas” (Yang, Laval, & Yu, 2014, p. 138).

Las saponinas son glicósidos que se encuentran distribuidos ampliamente en las plantas y están formadas por una aglicona de origen terpénico, esteroidal o esteroidal alcaloide; al cual se une por el hidroxilo del carbono-3 una cadena ramificada de azúcares, la cual puede ser de hasta cinco moléculas, usualmente glucosa, arabinosa, ácido glucurónico, xilosa y ramnosa... Algunas saponinas tienen adicionalmente un motivo de azúcar, el cual es generalmente glucosa, unido al carbono-26 ó 28. Las saponinas esteroidales se encuentran principalmente en monocotiledóneas, mientras que las saponinas terpénicas se encuentran especialmente en dicotiledóneas. (Díaz, 2009, p. 36)

En la Figura 4, se muestra un ejemplo de saponina (esteroidal).

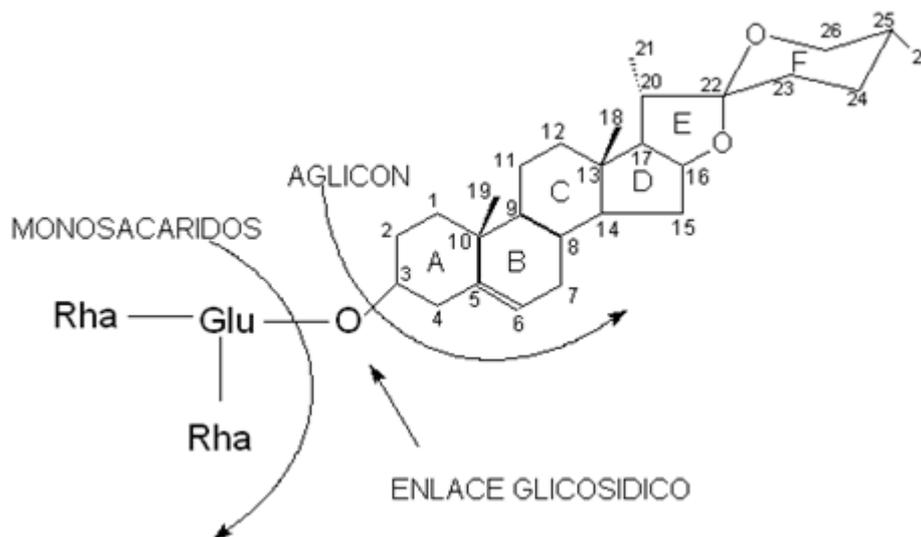


Figura 4. Ejemplo de saponina esteroidal.

Fuente: Cervantes, (2016).

“Las saponinas... tienen un amplio rango de propiedades biológicas... Sus propiedades tensioactivas son lo que distingue estos compuestos de otros glucósidos. Se disuelven en agua para formar soluciones coloidales que forman espuma al sacudir” (Sparg et al., 2004, p. 219). Además, “poseen actividad antimicrobiana, fungicida, insecticida, molusquicida y antiparasítica” (Yang et al., 2014, p. 138). También presentan “actividades farmacológicas – potente antiinflamatorio, antihipertensivo, anti cáncer...” (Ghoghari & Rajani, 2006, p. 113). En la Tabla 5 se muestra el contenido de saponinas de algunos vegetales.

Tabla 5. *Contenido de saponina de algunos materiales vegetales seleccionados*

Fuente	Contenido de saponinas (%)
Soja	0,22-0,47
Garbanzo	0,23
Guisante verde	0,18-4,2
Corteza de quillay	9-10
Yuca	10
Fenogreco	4-6
Alfalfa	0,14-1,71
Raíz de regaliz	22,2-32,3
Ginseng americano (<i>P. quinquefolium</i> L).	
Hojas jóvenes	1,42-2,64

Fuente	Contenido de saponinas (%)
Hojas maduras	4,14–5,58
Raíces (4 años)	2,44–3,88
Avena	0,1–0,13
Castaño de Indias	3–6
Hojas de remolacha	5,8
Quinua	0,14–2,3

Fuente: Güçlü-Üstündağ & Mazza, (2007).

Estos compuestos, dependiendo del número azúcares unidos, puede además ser clasificado como mono-, di-, tri-, tetra-, penta- o hexa- glicósidos. Si el azúcar (o cadena de azúcares) está presente únicamente en una posición de la sapogenina, la saponina es llamada monodesmosídica... La mayoría de saponinas espirostanol de *Agave* es monodesmosídica y tiene una unidad de azúcar presente en el C-3 de la aglicona.

Las saponinas bidesmosídicas, por otra parte, tienen dos unidades de azúcar localizadas en dos puntos diferentes del núcleo de aglicona. (Sidana et al., 2016, p. 2)

Además, si son tres cadenas de azúcar unidas a la aglicona en diferentes puntos, a las saponinas se las denomina tridesmosídicas (Yang et al., 2014).

Como se observa en la Figura 5, “Las saponinas esteroidales... comprenden cuatro tipos representativos de esqueleto esteroidales, llamados, espirostan hexacíclico, furostan pentacíclico, colestan tetracíclico, y cardenólido contenedor de lactona...” (Yang et al., 2014, p. 139).

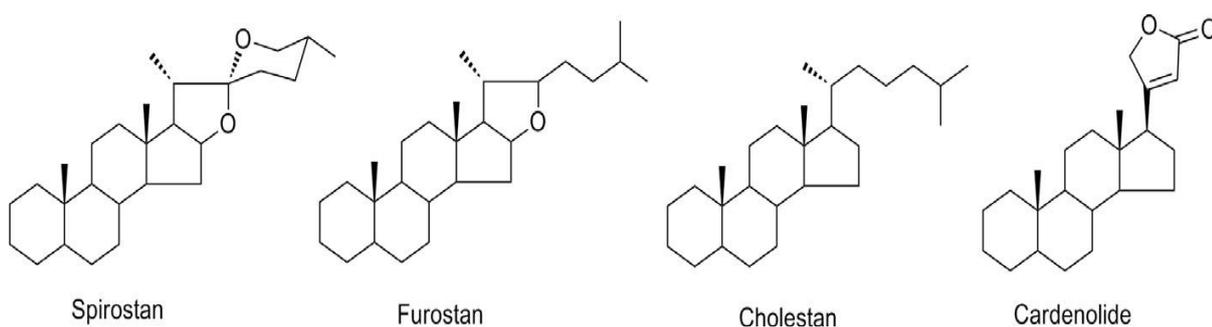


Figura 5. Esqueletos de aglicona representativos de saponinas esteroidales.

Fuente: Yang et al., (2014).

“Las saponinas generalmente son conocidas como compuestos no-volátiles...” (Vincken, Heng, de Groot, & Gruppen, 2007, p. 276).

2.2.3.1. Biosíntesis de saponinas esteroidales

La biosíntesis de las saponinas esteroidales (Figura 6), se produce de la siguiente manera: Su síntesis en plantas es por la ruta del acetil-CoA vía ácido mevalónico y escualeno. En donde una vez formado un precursor esteroide con 27 átomos de carbono, este es deshidrogenado para originar 3-colestanona. La colestanona es hidroxilada en los carbonos 16, 22 y 27. Este compuesto intermediario al ser altamente hidroxilado en la cadena lateral, puede sufrir una deshidratación en los hidroxilos unidos a los carbonos 16 y 22, lo que origina la 3-furostanona; o también puede sufrir además otra deshidratación entre los hidroxilos restantes de las posiciones 22 y 27, lo que da lugar al anillo de espirostanona propiamente dicho. La 3-espirostanona puede ser reducida a 3-espirostanol, el cual puede sufrir procesos enzimáticos de glicosilación para originar las saponinas esteroidales. (Alcázar, 2016, p. 12)

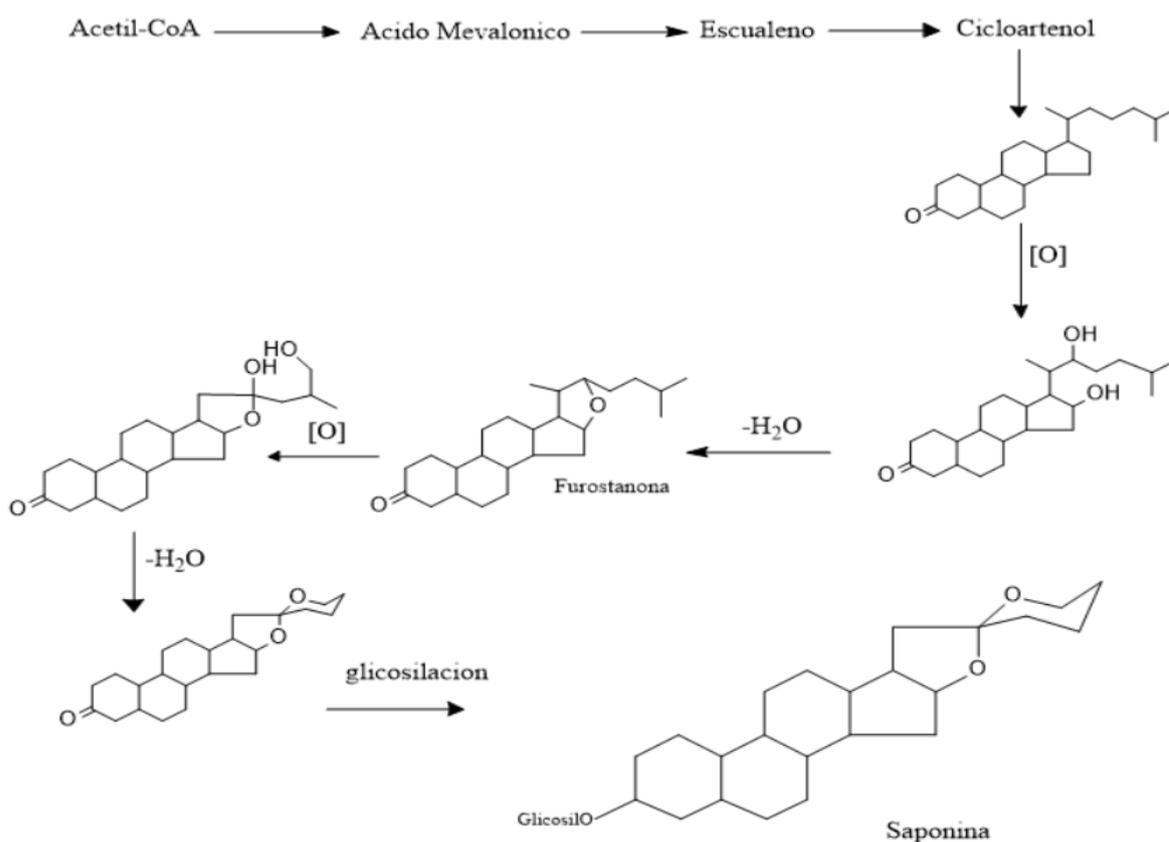


Figura 6. Síntesis de saponinas esteroidales en plantas.

Fuente: Alcázar, (2016).

Aunque algunos autores también sugieren que las agliconas (sapogeninas) esteroidales se pueden producir a partir de los esteroides de las plantas seguidas por una oxidación en los carbonos C-16, C-22, C-27, seguido por el cierre del anillo, debido a que se ha observado que

en las especies de *Agave* y *Dioscoreaceae* cuando la concentración de esteroides es alta la concentración de saponina es baja y viceversa. (Alcázar, 2016, p. 12)

2.2.3.2. Saponinas en hojas de *A. americana* L.

En la Tabla 6 se mencionan las saponinas identificadas por diversos autores, en las hojas de *A. americana* L.

Tabla 6. Saponinas en hojas de *A. americana* L.

Saponina	En	Tipo
Agavoside A	Hf*	E ₁
Agavoside C, Agavoside C', Agavoside D, Agavoside E, Agavoside F, Agavoside G, Agavoside H, Agavoside I	H**	
Agamenoside C	Hf*	E ₁
Agamenoside I	H*	E ₁
Chlorogenin 3,6-di- <i>O</i> - β -D-glucoopyranoside	H*	E ₂
Hainangenin 3,6-di- <i>O</i> - β -D-glucoopyranoside	H*	E ₂
Cantallasaponin-1	H*	E ₂
(25R)-5 α -Spirostan-3 β ,6 α -diol-12-one 3,6-di- <i>O</i> - β -D-glucoopyranoside	H*	E ₂
Agamenoside H	H*	E ₂
Agavoside B	Hf*	E ₂
(25R)-5 α -Spirostan-3 β -ol-12-one 3- <i>O</i> - β -D-glucoopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- <i>O</i> - β -D-glucoopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- <i>O</i> - β -D-galactopyranoside	Hf*	E ₃
(25R)-5 α -Spirostan-3 β -ol-12-one 3- <i>O</i> - β -D-glucoopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- <i>O</i> -[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- <i>O</i> - β -D-glucoopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-galactopyranoside	H*	E ₄
Agamenoside B	Hf*	E ₄
Agamenoside D	Hf*	E ₄
Agamenoside E	Hf*	E ₅
Agamenoside F	Hf*	E ₅
(25R)-5 α -Spirostan-3 β -ol 3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- <i>O</i> - β -D-glucoopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- <i>O</i> -[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- <i>O</i> - β -D-glucoopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- <i>O</i> - β -D-galactopyranoside	Hf*	E ₅
Agamenoside A	Hf*	E ₅
Agamenoside G	Hf*	E ₅
Agavesaponin E	H*	E ₆
Agave-saponin C	H**	E _b

Saponina	En	Tipo
Agamenoside J	H*	Fg
Agavasaponin H	H*	Fg

Fuente: *Sidana et al., (2016); **Ghoghari & Rajani, (2006). H= Hoja. Hf= Hoja fermentada. E₁= Espirostanol monoglicósido. E₂= Espirostanol diglicósido. E₃= Espirostanol triglicósido. E₄= Espirostanol tetraglicósido. E₅= Espirostanol pentaglicósido. E₆= Espirostanol hexaglicósido. Eb= Espirostanol bidesmosídica. Fg= Furostanol glicósido.

2.2.3.2.1. Sapogeninas en hojas de *A. americana* L.

En la Tabla 7 se mencionan las agliconas de las saponinas de las hojas de *A. americana* L.

Tabla 7. Sapogeninas en hojas de *A. americana* L.

Sapogenina	Encontrada en
Hecogenina	Hoja*
	Hoja fermentada*
Hongguanggenina	Hoja fermentada*
Agavegenin A	Hoja fermentada*
Agavegenin B	Hoja fermentada*
Agavegenin C	Hoja*
Agavegenin D	Hoja*
Gitogenina	Hoja**
Tigogenina	Hoja**
Gentrogenina	Hoja

Fuente: *Sidana et al., (2016); **Ghoghari & Rajani, (2006); Blunden et al., (1978).

“La hecogenina es uno de los precursores importantes para la síntesis de hormonas esteroidales...” (Ghoghari & Rajani, 2006, p. 113).

2.2.3.3. Influencia de los factores ambientales abióticos sobre el contenido de saponinas en las plantas.

Las saponinas son un gran grupo de metabolitos secundarios que ocurren en cantidades significativas en muchas especies de plantas. Sin embargo, el contenido de saponinas de las plantas es variable y puede ser influenciado por el ambiente que le rodea. El geoclima local, los cambios de estación, condiciones externas como la luz, temperatura, humedad y la

fertilidad del suelo, también las técnicas de cultivo, afectan a la cantidad y composición de saponinas. (Szakiel et al., 2011a, p. 471)

2.2.3.4. Influencia de los factores ambientales bióticos sobre el contenido de saponinas en las plantas.

El contenido de saponinas en las plantas... es dinámico, responde a muchos factores externos incluyendo estímulos bióticos como el ataque de herbívoros o infección patogénica. La síntesis y acumulación de saponinas pueden ser, por lo tanto, consideradas como parte de los mecanismos de defensa integrados de las plantas y así fluctuaciones significantes en el contenido de saponinas deberían ser esperadas en plantas infestadas con plagas o infectadas por patógenos, a pesar de que es difícil predecir la escala de tal influencia ya que algunas reacciones de defensa son realizadas solo localmente y las respuestas de la planta pueden ser limitadas a los tejidos infectados. (Szakiel, Pączkowski, & Henry, 2011b, p. 500)

2.2.4. Defensa de la planta frente a enfermedades.

2.2.4.1. Concepto de enfermedad en las plantas

Las plantas presentarán enfermedad cuando una o varias de sus funciones sean alteradas por los organismos patógenos o por determinadas condiciones del medio... Los procesos específicos que caracterizan las enfermedades, varían considerablemente según el agente causal y a veces según la planta misma.

En un principio, la reacción de la planta ante el agente que ocasiona su enfermedad se concentra en la zona enferma, y es de naturaleza química e invisible. Sin embargo, poco tiempo después la reacción se difunde y se producen cambios histológicos que se hacen notables y constituyen los síntomas de la enfermedad. (Agrios, 1995, p. 4)

2.2.4.2. Desarrollo de la enfermedad en las plantas

Las plantas sufren enfermedades cuando son atacadas por algún patógeno o son afectadas por un agente abiótico. Por lo tanto, para que se produzca alguna enfermedad en las plantas, deben entrar en contacto e interactuar por lo menos dos componentes, a saber, la planta hospedante y el patógeno. Sin embargo, si durante el momento en que entran en contacto la planta hospedante y el patógeno y por algún tiempo después las condiciones ambientales existentes son de demasiado frío, demasiado calor, mucha sequía o prevalece alguna otra condición ambiental extrema, es posible que el patógeno no pueda atacar a su hospedante o

que éste sea resistente a dicho ataque, por lo que, aun cuando ambos componentes estén en contacto, no se produce enfermedad alguna en la planta hospedante.

Por lo tanto, al parecer debe estar presente también un tercer componente (un conjunto de condiciones ambientales dentro de límites favorables) para que se desarrollen las enfermedades en las plantas. Sin embargo, cada uno de los tres componentes muestra una considerable variabilidad y cuando alguno de ellos cambia, influye sobre el grado de severidad de la enfermedad dentro de cada una de las plantas y dentro de toda una población vegetal.

Por ejemplo, puede darse el caso de que las plantas hospedantes sean de alguna especie o variedad más o menos resistente al ataque del patógeno o bien que sean demasiado jóvenes o muy viejas, o bien que las plantas que existen en una gran área muestren uniformidad genética, todo esto puede reducir o incrementar la tasa de desarrollo de la enfermedad que produce un patógeno en particular.

A su vez, el patógeno puede ser de alguna raza más o menos virulenta puede estar presente en una cantidad pequeña o bastante grande, o presentarse en estado latente o bien puede requerir de una película de agua o un vector específico para su transmisión.

El ambiente puede afectar tanto el crecimiento como la resistencia de las plantas hospedantes y también la tasa de crecimiento o de multiplicación y el grado de virulencia de un patógeno, así como su dispersión por el viento, el agua, los vectores, etc.

Con frecuencia, las interacciones de los tres componentes de las enfermedades se han concebido como un triángulo..., que se conoce en general como el “triángulo de las enfermedades”. Cada lado del triángulo representa uno de los tres componentes. El tamaño de cada lado es proporcional a la suma total de las características de cada componente que favorece las enfermedades.

Por ejemplo, si las plantas son resistentes, están en una etapa de crecimiento que no es susceptible al patógeno o están bastante separadas unas de otras, el lado del hospedante (y la magnitud de la enfermedad) sería pequeño o igual a cero, mientras que si las plantas son susceptibles, pasan por una etapa de crecimiento susceptible al patógeno o están muy cerca unas de otras, el lado del hospedante sería largo y la magnitud potencial de la enfermedad puede ser grande.

Asimismo, cuanto más virulento, abundante y activo sea el patógeno, de mayor longitud será el lado del patógeno y también mayor será la magnitud potencial de la enfermedad.

De la misma manera, cuanto más favorables sean las condiciones ambientales que favorecen al patógeno (como por ejemplo, la temperatura, la humedad y el viento) o que reducen la

resistencia del hospedante, mayor será el lado del ambiente y mayor también la magnitud potencial de la enfermedad. Si los tres componentes del triángulo de las enfermedades pueden cuantificarse, el área del triángulo representaría la magnitud de la enfermedad en una planta o en una población vegetal. (Agrios, 1995, p. 43)

En la Figura 7, se muestra el “triángulo de las enfermedades”.



Figura 7. El triángulo de las enfermedades.

Fuente: Agrios, (1995).

El ciclo de una enfermedad incluye los cambios y síntomas que sufre una planta, así como los que se producen en el patógeno, y los períodos comprendidos en una estación de crecimiento o al cabo de estaciones de crecimiento consecutivas. Los eventos principales del ciclo de una enfermedad incluyen la inoculación, penetración, establecimiento de la infección, colonización (invasión), crecimiento, reproducción, dispersión y supervivencia del patógeno en ausencia de su hospedante, es decir su supervivencia a la llegada del invierno o del verano. (Agrios, 1995, p. 44)

“Al intervalo de tiempo comprendido entre la inoculación y la aparición de los síntomas de la enfermedad se le denomina período de incubación” (Agrios, 1995, p. 53). En cuanto a las enfermedades provocadas por hongos en las plantas se señala que: “La supervivencia y función de la mayoría de los hongos fitopatógenos depende ampliamente de las condiciones predominantes de temperatura y humedad o de la presencia de agua en su medio” (Agrios, 1995, p. 277).

En base a lo expuesto, para que se produzca una enfermedad en la planta deben existir tres elementos convergentes dentro de los límites favorables para que se produzca la enfermedad: ambiente, patógeno y hospedante. En este caso, el hospedante es *A. americana* L., los patógenos son los microorganismos que le provocan la enfermedad, y el ambiente que son las condiciones climáticas. Todos estos factores determinan el grado de virulencia del patógeno. En cuanto a las enfermedades provocadas por hongos en las plantas, generalmente la temperatura y humedad (o agua) juegan un papel fundamental en su patogenicidad.

Los síntomas que producen los microorganismos en las plantas son:

Muerte de los tejidos o necrosis.- Puede estar localizado o en general. Cuando está confinado al follaje en forma de puntos dispersos se le llama manchado. Si las manchas son deprimidas en relación al tejido sano en las hojas se le llama antracnosis. Si el hongo es de color oscuro y superficial se le llama fumagina. Cuando las manchas están sobre tejidos leñosos ocasionando depresiones se les llama canchales o cánceres. Las manchas necróticas acompañadas de pequeños abultamientos de los tejidos recibe el nombre de roña o sarna. Cuando la necrosis es acompañada de secreción de sustancias (mucilaginosas o azucaradas) se le denomina gomosis.

Crecimiento anormal.- Este grupo de síntomas implica la detención del desarrollo (atrofia) o un crecimiento mayor de lo normal en algunas partes o toda la planta. La falta de desarrollo de la planta se le denomina achaparramiento o enanismo.

Coloración anormal de los tejidos.- En una parte o en toda la planta puede presentarse una alteración en la coloración normal. Este síntoma ocurre y se alterna con partes de tono normal y se denomina mosaico; si los cambios de color son en forma de manchas o líneas irregulares se les denomina moteado, En forma regular se llama variegado o rayado. Si la planta completa pierde su coloración verde y toma un tono amarillo se le llama clorosis...

Marchitez.- Es la pérdida de turgencia de la planta y esta puede ser temporal o permanente, lo que culmina con la muerte de la planta. A este síntoma se le denomina generalmente tristeza.

Signos o síntomas.- Aun cuando estos varían de acuerdo con el cultivo y la región o el país, son importantes para determinar a priori el posible agente causal de una enfermedad.

Síndrome.- Es el conjunto de síntomas, p. ej. el “sida” del agave.

Las enfermedades causadas por hongos se manifiestan como manchas y/o pudriciones semisecas, inoloras que se encuentran generalmente en el follaje, piña y raíz. Las causadas por bacterias son pudriciones húmedas con olores fétidos, que generalmente se presentan en el cuello y el cogollo. Los hongos tienen la facultad de entrar a la planta por sus propios medios;

mientras que las bacterias aprovechan las heridas. (Comité Estatal de Sanidad Vegetal Guanajuato [CESAVEG], s.f., pp. 16-17)

2.2.4.3. Efecto de los patógenos sobre la fotosíntesis

La fotosíntesis es el proceso básico de las plantas verdes que les permite transformar la energía luminosa en energía química que pueden utilizar en sus actividades celulares. La fotosíntesis es la fuente fundamental de toda la energía que utilizan las células animales y vegetales, debido a que en una célula viva, todas las funciones, a excepción de la fotosíntesis, utilizan la energía que proporciona esta última.

Durante la fotosíntesis, el bióxido de carbono de la atmósfera y el agua del suelo son transportados hasta los cloroplastos de las partes verdes de una planta y, en presencia de la luz, reaccionan para formar glucosa y liberar oxígeno...

... es evidente que cualquier alteración que ocasionen los patógenos sobre esta función dará como resultado la enfermedad de la planta. El hecho de que los patógenos interfieren con la fotosíntesis lo demuestra la clorosis que producen en muchas plantas infectadas, las lesiones necróticas o grandes zonas necróticas que ocasionan en algunas partes verdes de la planta, así como la disminución y menor producción... de las plantas, que se manifiestan en muchas plantas que han sido infectadas.

En las manchas foliares, tizones y otros tipos de enfermedades en las que son destruidos los tejidos de las hojas, la fotosíntesis disminuye debido a la reducción, e incluso la muerte, de la superficie fotosintética de la planta. (Agrios, 1995, p. 88)

En otras palabras, en base a lo expuesto por Agrios (1995), cuanto mayor área foliar sea afectada por los patógenos, disminuye la fotosíntesis, y se podría esperar una menor concentración de metabolitos (saponinas) por hoja.

2.2.4.4. Reconocimiento entre el hospedante y el patógeno

En las interacciones entre los microorganismos y sus plantas huéspedes hay sin duda una gran comunicación a nivel molecular, en el que dialogan, discuten y batallan al mismo tiempo muchos y variados actores moleculares de la planta y de los microorganismos. Estos actores moleculares se encargan de reconocerse entre sí, de evitar que el otro lo reconozca, de doblegar las defensas del otro y de utilizar al otro para su beneficio. Todos los actores en juego son importantes, ya sea para que la planta detenga el avance de los microorganismos patógenos, para que los microorganismos vivan en la planta y le paguen el alquiler a ésta con

ayuda, o para que los microorganismos vivan en la planta sin que ella se entere. (Díaz, 2009, p. 46)

Así, conforme a lo expresado por Díaz (2009), la interacción molecular entre planta y patógeno conlleva a que la planta enferme (con o sin reconocimiento del patógeno) o no enferme.

Cuando la señal de reconocimiento inicial percibida por el patógeno favorece su crecimiento y desarrollo, la enfermedad es inducida; si dicha señal suprime el crecimiento y la actividad del patógeno, la enfermedad cede. Por otro lado, si la señal de reconocimiento inicial percibida por el hospedante desencadena una reacción de defensa, el crecimiento y actividad del patógeno disminuyen o cesan y es posible que no se produzca la enfermedad; por el contrario, si dicha señal suprime o anula la reacción de defensa del hospedante, se desarrolla la enfermedad. (Agrios, 1995, p. 47)

Dicho de otra forma, Agrios (1995) aclara que si la reacción de defensa de la planta es suprimida se produce la enfermedad y, por el contrario, si dicha reacción no es suprimida se puede producir la enfermedad (atenuada) o no enfermar.

Una vez que el patógeno penetra la planta, ya sea a través de aperturas naturales (estomas), o atravesando directamente la pared celular, hay inducción de cambios en las células cercanas al invasor, y en la mayoría de los casos estos cambios bloquean el avance del patógeno. Las interacciones entre plantas y microorganismos son generalmente llamadas interacción huésped o de no- huésped. En la primera (sistemas huésped), la planta provee de nutrientes al patógeno, mientras que en la segunda, la planta no puede mantener el crecimiento del patógeno. Los sistemas huésped suelen subdividirse en interacciones compatibles o incompatibles. Estas interacciones están basadas en la habilidad de la planta para reconocer patógenos específicos. En la interacción incompatible, la planta reconoce el patógeno y bloquea su crecimiento inmediatamente después de la penetración. En las interacciones compatibles, el microorganismo suprime o retrasa el reconocimiento de este por la planta, de tal forma que el patógeno puede invadir la planta. Los patógenos biotróficos no causan la muerte celular de su huésped, mientras que los patógenos necrotróficos, que invaden la planta a través de heridas o de tejido muerto, sí matan la célula y se alimentan de sus desechos... Los patógenos hemibiotróficos combinan las dos formas de crecimiento en la planta (biotrófica y necrotrófica); un ejemplo es el hongo *Septoria lycopersici*, el cual invade el espacio intercelular de las hojas de tomate, y al inicio de la infección crece biotróficamente, mientras que al final de la infección crece como un necrotrófico. (Díaz, 2009, p. 33)

Conforme a Díaz (2009), si una planta infectada sobrepasa la fase de penetración del patógeno se clasifica como sistema huésped con interacción compatible, en la cual el microorganismo suprime o retrasa su reconocimiento por la planta y por tanto la invade.

Durante la detección de patógenos también ocurre un cambio en los flujos de iones en la membrana. Segundos después de detectar al patógeno, el flujo de iones entre $\text{Ca}^{++}/\text{H}^{+}$ y $\text{K}^{+}/\text{Cl}^{-}$ es inducido y la matriz extracelular es alcalinizada. Seguido del flujo de iones, hay un aumento en la expresión de los genes relacionados con las defensas, que llevan a (I) una producción de fitoalexinas, (II) el fortalecimiento físico de las paredes celulares por la producción de callo y ligninas, y (III) la inducción de genes relacionados a la patogenicidad (RP -siglas en inglés, PR-). Algunas respuestas en los sistemas de no-huésped llevan a la producción localizada de Especies Reactivas del Oxígeno (ERO - siglas en inglés, ROS-), y la célula vegetal muere. A esta muerte inducida se le conoce como Respuesta Hipersensible (RH - siglas en inglés, HR-). Muchas de las respuestas de defensa inducidas en la resistencia de no-huésped son similares a las inducidas en la resistencia de gen-a-gen, sin embargo, no está claro si las dos resistencias involucran las mismas vías de transducción de señales. (Díaz, 2009, p. 34)

Por tanto, según Díaz (2009), después de que la planta detecta al patógeno se producen algunas reacciones de defensa, entre las cuales se señala a la producción de fitoalexinas.

Las evidencias indican que los microorganismos que viven en las plantas poseen algún mecanismo de tolerancia a las defensas químicas de ellas. Dicha tolerancia puede estar dada por cualquiera de los siguientes mecanismos: (I) modificación enzimática del compuesto, (II) transportadores de membrana implicados en la tolerancia a compuestos naturales tóxicos y a fungicidas, (III) cambios en las concentraciones celulares de los componentes afectados por los compuestos vegetales y (IV) ausencia en la célula del blanco de acción del compuesto vegetal. (Díaz, 2009, pp. 35-36)

2.2.4.5. Fitoanticipinas – Fitoalexinas.

Las plantas están expuestas a una gran variedad de microorganismos, los cuales pueden ser benéficos, como las micorrizas, o adversos para la planta. Las plantas necesitan reconocer estos microorganismos y responder a ellos de una forma apropiada. En el caso de los organismos adversos, las plantas se defienden a través de un sistema complejo de múltiples niveles de defensa que actúan de forma sincronizada y casi simultáneamente... Algunas defensas son constitutivas, es decir, que se producen durante todo el ciclo de la célula, mientras que otras son inducidas por el estrés generado por agentes patógenos. Entre las

defensas constitutivas están las paredes celulares (que son una barrera física) y algunos metabolitos, como son las saponinas, los glicósidos cianogénicos y los ácidos hidroxámicos cíclicos, los cuales representan una barrera química. Estos compuestos se encuentran generalmente almacenados en vacuolas u organelos, y son liberados al citoplasma o extracelularmente. Por el contrario, en las defensas inducidas, los compuestos químicos que actúan como barreras son sintetizados como respuesta al ataque de patógenos o al estrés abiótico, y su actuación está restringida a las células que rodean la zona afectada. Las defensas químicas inducidas de las plantas son llamadas fitoalexinas. (Díaz, 2009, p. 33)

“...han propuesto el término “fitoanticipina” para distinguir a las sustancias antimicrobianas pre-formadas de aquellas inducidas *de novo* en respuesta al ataque del patógeno (fitoalexinas)” (Osborn et al., 1996, p. 547).

Por tanto, según Díaz (2009), las plantas utilizan diversas sustancias para combatir a los patógenos, algunas se producen localmente en respuesta a un estímulo (fitoalexinas) como el ataque de un patógeno y otras sustancias (saponinas) que se producen durante la vida de la célula. Y, conforme a Osborn et al. (1996), se infiere que las saponinas son fitoanticipinas.

Las fitoalexinas no son producidas durante las infecciones biotróficas compatibles. La mayoría de elicitores de fitoalexinas son generalmente sustancias de alto peso molecular que son constituyentes de la pared celular del hongo, como los glucanos, quitosano, glicoproteínas y polisacáridos. Las moléculas elicitores son liberadas de la pared celular del hongo por las enzimas de la planta hospedera. (Singh & Singh, 2017, p. 128)

Es decir, según Singh & Singh (2017) la producción de fitoalexinas se inicia generalmente porque la planta libera algunas moléculas de la pared celular del hongo patógeno.

2.2.4.5.1. Saponinas y su relación con la sanidad de la planta

Las saponinas con una cadena de azúcares unida al carbono-3 tienen gran actividad microbicida. Esta actividad depende de la ramificación de los azúcares... ya que cuando la saponina pierde un azúcar terminal, la cadena de azúcares queda linearizada y la saponina pierde la actividad microbicida. (Díaz, 2009, p. 37)

El número de azúcares unidos a la saponina también impacta su bioactividad, como lo visto en las propiedades antifúngicas de los glicósidos de hecogenina de *A. americana* L., donde las cadenas de carbohidratos de 4 o 5 azúcares tuvieron un efecto más fuerte. (Santos, Rosas, Leal, & Gutiérrez, 2016, p. H1)

Además, ciertos microorganismos pueden producir una liberación completa de la cadena de azúcares, produciendo la aglicona (Díaz, 2009).

“También se ha sugerido que algunos patógenos pueden bajar el pH en el sitio de infección y por lo tanto inactivan la saponina” (Díaz, 2009, p. 41).

2.2.4.5.2. Liberación de saponinas en respuesta al ataque de hongos.

Las saponinas caen en la categoría de fitoanticipinas. Sin embargo, en algunas instancias las concentraciones de saponinas han sido reportadas incrementadas en respuesta al ataque microbiano... Los efectos tóxicos de saponinas han sido adscritos a su habilidad para formar complejos con los esteroides de la membrana... Alternativamente las saponinas pueden ser almacenadas en formas bidesmosídicas inactivas, las cuales tienen una porción de azúcar adicional unida al C-28 (saponinas triterpenoides) o al C-26 (saponinas esteroidales). Una ruptura en la compartimentación de la célula resultante del daño del tejido o del ataque del patógeno expondrá a las saponinas bidesmosídicas al contacto con glicosil hidrolasas específicas de la planta, las cuales entonces activan a las saponinas al convertirlas a las formas monodesmosídicas. Si las saponinas son compartimentadas en las células de la planta en una forma activa o inactiva, el daño tisular causado por hongos patógenos necrotróficos dará lugar a la liberación de saponinas antifúngicas. (Osbourn et al., 1996, pp. 547-548)

2.2.5. Cuantificación de enfermedades

“...la Patometría es una ciencia dentro de la Fitopatología que busca estimar en forma cuantitativa o cualitativa una enfermedad a campo o en condiciones controladas” (Lavilla & Ivancovich, 2016, p. 1). Para evaluar la enfermedad de manera directa, se utilizan escalas: cuantitativas, cualitativas (Lavilla & Ivancovich, 2016).

Características de las escalas para la evaluación de enfermedades a campo:

- a. Deben ser apropiadas y acoplarse a la enfermedad que debe evaluarse.
- b. En el momento de medir una enfermedad con una escala también debe contemplarse: fecha de evaluación, condiciones ambientales, estado fenológico del cultivo, y tejidos vegetales a evaluar.
- c. El método de evaluación debe ser reproducible, fácil y rápido de usar. (Lavilla & Ivancovich, 2016, p. 1)

“Las escalas no deberían tener más de cuatro o cinco categorías para poder diferenciar claramente lo que se pretende evaluar con ellas” (Lavilla & Ivancovich, 2016, p. 2).

III. METODOLOGÍA

3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO

3.1.1. Enfoque

Cuantitativo, pues en base a los datos numéricos de la concentración de saponinas se probaron las hipótesis.

3.1.2. Tipo de Investigación

La presente investigación es exploratoria porque buscó conocer la concentración de saponinas en las hojas enfermas de *A. americana* L.

Además, es descriptiva por cuanto se caracterizaron los estadios de las enfermedades con alta incidencia (en la localidad del estudio) que afectan a las hojas de *A. americana* L., en los cuales se determinó la concentración de saponinas.

También, es correlacional porque buscó conocer la relación entre la afectación sanitaria en las hojas de *A. americana* L. y la concentración de saponinas.

3.2. HIPÓTESIS

H₀: En las hojas de cabuya negra (*A. americana* L.) la concentración de saponinas no varía con el estadio de la afectación sanitaria, bajo las condiciones agroclimáticas de la parroquia Tulcán.

H₁: En las hojas de cabuya negra (*A. americana* L.) la concentración de saponinas varía con el estadio de la afectación sanitaria, bajo las condiciones agroclimáticas de la parroquia Tulcán.

3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Dimensión	Indicadores	Técnica	Instrumento
Independiente: Hojas de cabuya negra (<i>A. americana</i> L.) afectadas sanitariamente	Síndrome (conjunto de síntomas) de cada enfermedad con alta incidencia	Estadios de cada enfermedad con alta incidencia	Observación	Ficha de observación
Dependiente: Concentración de saponinas	Concentración (Masa/masa)	Masa de saponinas totales/masa de muestra seca	Observación (HPLC-PDA)	Ficha de observación

3.4. MÉTODOS UTILIZADOS

3.4.1. Caracterización del área de estudio.

Se efectuó la georreferenciación del lugar en donde se encontró la población de plantas de *A. americana* L. en la parroquia Tulcán provincia del Carchi Ecuador, con coordenadas UTM WGS84: Zona 17S. Este (X): 866718,63 m; Norte (Y): 10092797,50 m; altitud: 2915,81 msnm.

Se realizó la caracterización climatológica de la zona señalada en base al reporte de la FAO (Anexo 1), con enfoque en las variables climatológicas más relevantes para el desarrollo de las enfermedades provocadas por hongos, así: la temperatura media anual es 11,8 °C, Humedad Relativa media de 84 %, precipitación anual de 891 mm (FAO, 2006).

3.4.2. Diagnóstico de enfermedades foliares.

Se inspeccionó la población de *A. americana* L. en estudio, con el fin de detectar las enfermedades con alta incidencia en las hojas, en base a sus signos y síntomas. Dichas plantas presentaron en sus hojas solo una enfermedad con alta incidencia. Se tomaron las muestras para su diagnóstico confirmatorio en el Laboratorio de Fitopatología de AGROCALIDAD en Tumbaco, en donde se detectó la presencia de un solo agente causal: *Phyllosticta* sp. (Figura 8 y Figura 9). Además, se descartó la presencia de bacterias, de otros hongos o de microorganismos saprófitos (Anexo 2).

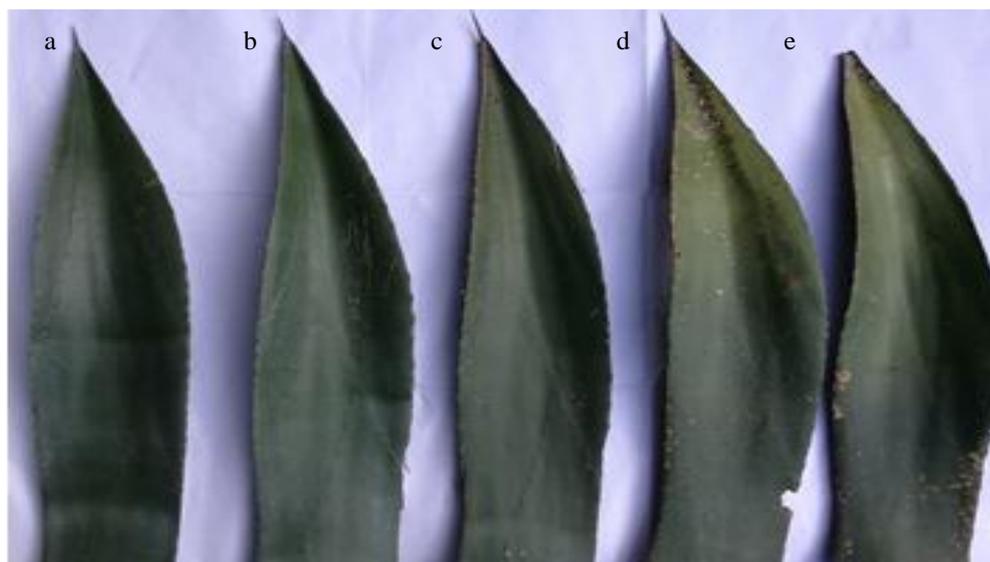


Figura 8. Haz de hojas de *A. americana* L. infectadas por *Phyllosticta* sp. Las hojas corresponden a diferentes rosetas (a – e) de una misma planta. En ese mismo orden, obsérvese el progreso de la enfermedad.

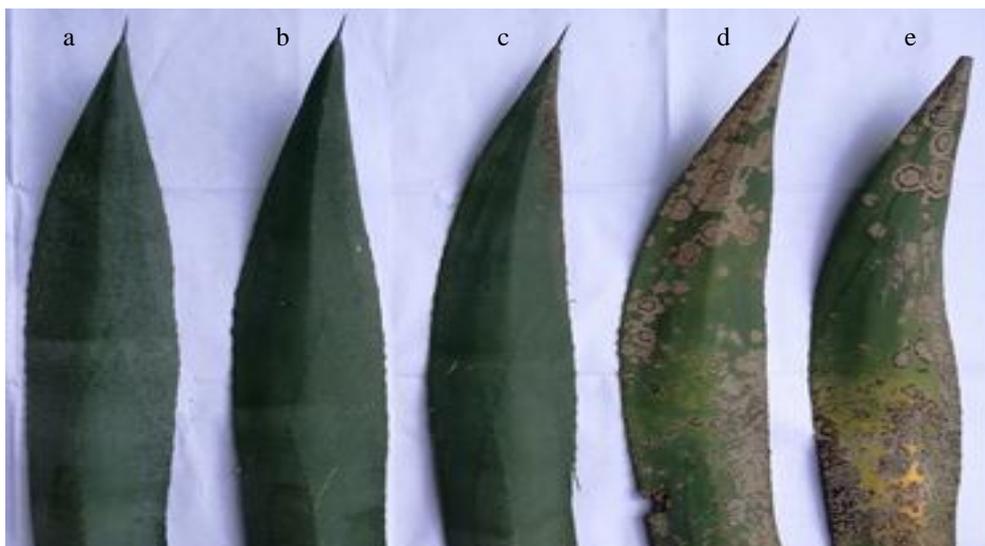


Figura 9. Envés de hojas de *A. americana* L. infectadas por *Phyllosticta* sp.

Las hojas corresponden a diferentes rosetas (a – e) de una misma planta.

En ese mismo orden, obsérvese el progreso de la enfermedad.

3.4.3. Determinación de los estadios de afectación foliar por *Phyllosticta* sp.

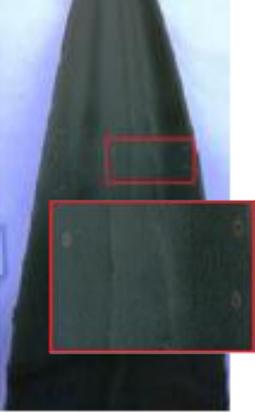
Se estandarizaron los síntomas comunes de las hojas infectadas por *Phyllosticta* sp., con fines de establecer estadios de la enfermedad.

Con estas consideraciones, se elaboró una escala cualitativa convencional de la afectación del agente causal *Phyllosticta* sp. en hojas de *A. americana* L., en base a los síntomas presentados en el haz de las hojas (Tabla 8), para efectos de la determinación de la concentración de saponinas totales.

3.4.4. Toma de muestras para la determinación de la concentración de saponinas.

Para el análisis de la concentración de saponinas totales en el laboratorio, se seleccionaron en total seis plantas semi-cultivadas (en el filo de un terreno), todas con seis rosetas de hojas, en pleno desarrollo vegetativo, cuyas hojas estuvieron afectadas por *Phyllosticta* sp.; se extrajeron (con cuchillo) 4 hojas (muestras) por planta, una hoja por cada estadio de la enfermedad, de acuerdo a la escala cualitativa convencional establecida: Estadio 1 (sin síntomas), Estadio 2 (inicial), Estadio 3 (medio) y Estadio 4 (avanzado). En total se colectaron 24 hojas (unidades de muestreo). Se retiraron (con cuchillo) las espinas y se limpiaron las hojas con una toalla mojada para eliminar el polvo y otras impurezas. Se trasladaron las muestras al laboratorio bajo refrigeración dentro de las 48 horas posteriores a su toma.

Tabla 8. Escala cualitativa convencional para las hojas de *A. americana* L. afectadas por el hongo fitopatógeno *Phyllosticta* sp. en base a los síntomas presentados en el haz

Estadio	Descripción	Figura
<p>Estadio 1: Testigo (hoja sin síntomas)</p>	<p>La hoja no presenta síntomas.</p>	
<p>Estadio 2: Inicial</p>	<p>Presencia de manchas cloróticas de hasta 2 mm de diámetro, con centro de color marrón, en su gran mayoría separadas, que tiende a crecer. Las manchas aparecen en sentido descendente desde el tercio superior de la hoja.</p>	
<p>Estadio 3: Medio</p>	<p>Presenta manchas de color marrón de hasta 8 mm de diámetro mayor, con un anillo clorótico externo de 1 mm de ancho, individuales o juntas; ubicadas principalmente en el tercio superior de la parte central de la hoja. En los bordes, las manchas pueden presentar un color blanquecino con borde marrón. Además, se presentan manchas típicas del estadio 2.</p>	
<p>Estadio 4: Avanzado</p>	<p>Se presenta predominantemente manchas blanquecinas irregulares individuales que tienden a unirse, de hasta 20 mm de longitud, y que puede tener un contorno marrón oscuro. Las manchas se ubican principalmente hacia los bordes de la hoja. Además, pueden existir manchas típicas de los estadios 2 y 3.</p>	

3.4.5. Determinación de la concentración de saponinas

La determinación de la concentración de saponinas se realizó en el Laboratorio de Cromatografía de la Universidad de Nariño mediante el método HPLC-PDA; y el protocolo utilizado fue:

Descripción del análisis

- Equipo: Cromatógrafo Líquidos HPLC Waters Breeze – Bomba Binaria 1525
- Columna: Hypersil Gold Thermo Scientific C18 (250 mm x 4,6 mm x 3,5 μ m) a 30°C
- Detector: PDA Waters 2998 a 203 nm y 245 nm (scan a 190-500 nm)
- Inyector: Rheodyne 7725I con Loop de 20 μ L
- Fase Móvil: Acetonitrilo: Agua (70:30). Flujo de fase móvil: 0,8 mL/min

Análisis de Saponinas: Las muestras se cortaron en pequeños trozos, se secaron en horno a 40°C durante tres días y se molieron en un molino de aspas. Una vez las muestras fueron homogenizadas, se pesaron en balanza analítica 2,0 g (\pm 0,01) y se adicionaron 100 mL de etanol al 90% para la extracción de las saponinas totales. Las muestras se agitaron a 600 rpm durante 2 horas y se conservaron a temperatura ambiente en maceración química por 24 horas. Posteriormente, se filtró y concentró a presión reducida a 40°C. Los extractos fueron disueltos en 3,0 mL de metanol grado HPLC. La identificación tentativa de los compuestos se realizó por comparación de los espectros UV a 203 y 235 nm. Se utilizó soluciones estándar de ácido oleanólico (Sigma-Aldrich, EUA) y Diosgenina para la cuantificación de las saponinas totales.

Finalmente, los resultados del laboratorio sobre la concentración de saponinas se expresaron en términos de saponinas totales como gramos de Diosgenina/kilogramo de muestra seca.

3.4.6. Análisis Estadístico

Se realizó un muestreo No Probabilístico, por conveniencia. Se tomaron en cuenta seis plantas de *A. americana* L. y a cada una de ellas se le analizaron cuatro hojas.

Para el análisis de datos se relacionó la concentración de saponinas totales con los estadios de la enfermedad provocada por *Phyllosticta* sp. en las hojas de *A. americana* L., en la parroquia Tulcán de la provincia del Carchi - Ecuador.

Se utilizó Bloques Completos al Azar (BCA), debido a que cada planta se consideró una unidad de bloqueo y de ella se tomaron hojas que estuvieron en los cuatro estadios (una hoja por cada estadio).

Con el software Statistix Versión 10.0 se determinó la media aritmética de la concentración de saponinas totales para cada estadio, el error típico, desviación típica, y el coeficiente de variación. Se aplicó la prueba de Análisis de Varianza (ANOVA) en BCA para probar las hipótesis a un nivel de significación del 5%. Para las comparaciones múltiples se realizó la prueba Diferencia Significativa Honesta (DSH) a un nivel de significación del 5% para determinar entre cuáles estadios se produjeron diferencias.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

Conforme a los resultados del análisis de laboratorio (Anexo 3), en la Tabla 9 se indican los datos de la concentración de saponinas totales en hojas de *A. americana* L. infectadas por *Phyllosticta* sp. en varios estadios de la enfermedad.

Tabla 9. Concentración de saponinas totales ⁽¹⁾ en hojas de *A. americana* L. infectadas por *Phyllosticta* sp. en varios estadios de la enfermedad

Repetición	Planta a	Planta b	Planta c	Planta d	Planta e	Planta f
Estadios	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg
Estadio 1 (testigo)	2,47	2,38	1,70	3,40	5,23	3,13
Estadio 2	2,58	2,83	1,62	4,73	3,93	4,06
Estadio 3	2,02	2,22	2,02	4,83	3,73	2,82
Estadio 4	1,78	1,14	2,04	2,48	3,12	1,74

Nota. (1): Expresado en términos de Saponinas totales como g de Diosgenina/kg de muestra seca. La cuantificación se realizó por sumatoria de las áreas totales de los picos en relación con la calibración de una solución estándar de Ácido Oleanólico y Diosgenina.

En la Tabla 10, se muestran los estadísticos descriptivos de la concentración de saponinas totales en hojas de *A. americana* L. infectadas por *Phyllosticta* sp.

Tabla 10. Estadísticos descriptivos de la concentración de saponinas totales en hojas de *A. americana* L. infectadas por *Phyllosticta* sp.

	N	Rango	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.	CV %
					Estadístico	Error típico	
Estadio 1 (testigo, hojas sin síntomas)	6	3,53	1,70	5,23	3,05	0,50	1,22 40,10
Estadio 2	6	3,11	1,62	4,73	3,29	0,47	1,15 34,85
Estadio 3	6	2,81	2,02	4,83	2,94	0,46	1,13 38,55
Estadio 4	6	1,98	1,14	3,12	2,05	0,28	0,68 33,28
Estadios 1, 2, 3, y 4	24	-	-	-	2,83	0,23	1,11 39,02

En la Tabla 11 se muestran los resultados de la prueba ANOVA en BCA, empleada para probar las hipótesis.

Tabla 11. Prueba de ANOVA en Bloques Completos al Azar para la concentración de saponinas en hojas de *A. americana* L. infectadas por *Phyllosticta* sp. en varios estadios de la enfermedad

F.V	GL	SC	CM	p-valor
Planta	5	17,09	3,42	
Estadios	3	5,30	1,77	0,018
Error	15	5,73	0,38	
Total	23	28,11		

Nota. Nivel de significación = 5%. Media General = 2,83. CV = 21,82 %.

Conforme a los resultados de la prueba de ANOVA en Bloques Completos al Azar, la significancia asintótica (p-valor) fue 0,018. Dicho valor es menor que el nivel de significación 0,05; por tanto se rechaza la hipótesis nula y, se acepta la hipótesis alternativa H_1 : En las hojas de cabuya negra (*A. americana* L.) la concentración de saponinas varía con el estadio de la afectación sanitaria; es decir, la concentración media de saponinas totales varía en las hojas de *A. americana* L. infectadas por *Phyllosticta* sp., al 5 % de nivel de significación.

En la Tabla 12 se muestran los resultados de la prueba DHS, en donde se identifica entre cuáles estadios se presentaron diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 12. Prueba DHS de Tukey para la concentración de saponinas en hojas de *A. americana* L. infectadas por *Phyllosticta* sp. en varios estadios de la enfermedad

Estadios	Medias	Grupos Homogéneos
Estadio 2	3,29	A
Estadio 1 (testigo)	3,05	A B
Estadio 3	2,94	A B
Estadio 4	2,05	B

Nota. Nivel de significación = 0,05

Así, únicamente existieron diferencias estadísticamente significativas en el par conformado por el Estadio 2 y el Estadio 4. Solo el Estadio 4 está por debajo de la media general.

En la Figura 10 se muestran las tendencias de la concentración media de saponinas en las hojas de *A. americana* L. conforme al avance de la afectación por *Phyllosticta* sp.

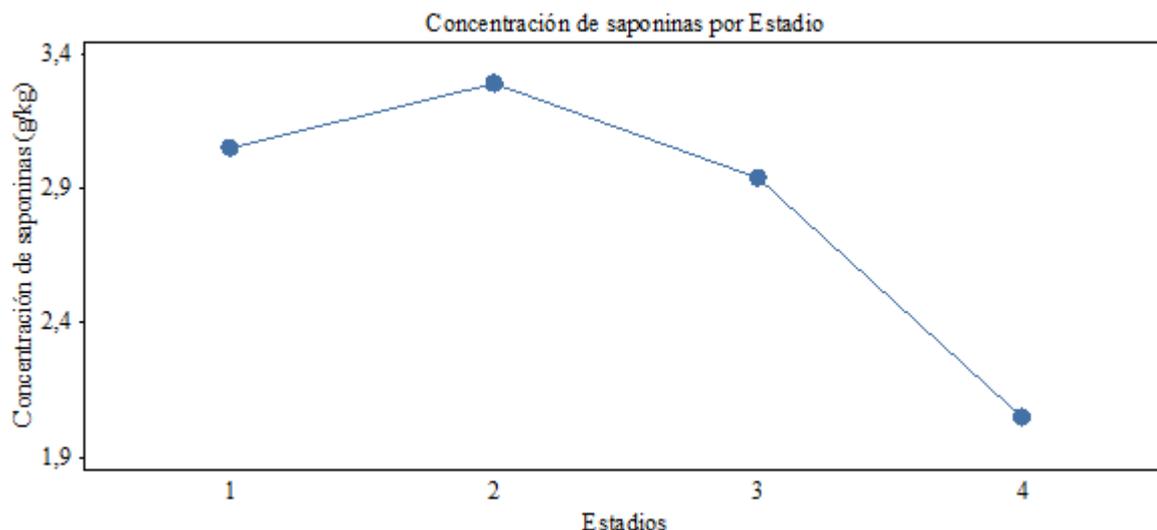


Figura 10. Comportamiento de la concentración de saponinas en hojas de *A. americana* L. infectadas por *Phyllosticta* sp. en varios estadios de la enfermedad.

4.2. DISCUSIÓN

Tomando en cuenta que “...el contenido de saponinas de las plantas es variable y puede ser influenciado por el ambiente que le rodea” (Szakiel et al., 2011a, p. 471). Además, que dicho contenido también responde al ataque de patógenos (Szakiel et al., 2011b). En la localidad en estudio de la parroquia Tulcán provincia del Carchi, FAO (2006) refiere una temperatura media anual de 11,8 °C, Humedad Relativa media de 84 % y precipitación anual de 891 mm. Allí, se detectó una sola enfermedad con alta incidencia en hojas de *A. americana* L. causada por *Phyllosticta* sp., que se caracterizó por un avance gradual de la infección generalmente entre las rosetas. En dichas hojas (cuatro estadios de manera conjunta) la concentración media de saponinas totales fue de 2,83 g de Diosgenina/kg de muestra seca, con un coeficiente de variación de 21,82 %.

En cuanto a los resultados encontrados en otras investigaciones se tiene que:

La concentración media de saponinas en hojas sin síntomas (Estadio 1) de *A. americana* L., en la parroquia Tulcán de la provincia del Carchi fue de 3,05 g de Diosgenina/kg de muestra seca, dicho valor es superior al reportado por Ulloa (2018) en Cuenca (Ecuador) que alcanzó un máximo de 1,2 g/kg (61 % menos que el Estadio 1). Cabe aclarar que los métodos de extracción de saponinas empleados en las dos investigaciones fueron diferentes. La mayor concentración de saponinas en la investigación de Ulloa (2018) se obtuvo con la técnica de microondas y, trabajó con la parte inferior de las hojas (presumiblemente sin síntomas, pues no se señala enfermedad alguna) de *A. americana* L.

Además, en Cuenca las muestras se tomaron aproximadamente a 2500 msnm (Ulloa, 2018). Mientras que para el presente estudio en la parroquia Tulcán se lo hizo a 2915,81 msnm; lo cual indica que son localidades con condiciones agroecológicas distintas. Así, dicha diferencia de altitud, conforme a Szakiel et al. (2011a), afecta la concentración de saponinas.

Por otra parte, van Mólken et al. (2014) reportaron el incremento de la concentración de saponinas a un poco más del doble en *Barbarea vulgaris* ante el ataque del hongo patógeno *Albugo* sp. En cambio, en el presente estudio se obtuvo un incremento del 8 % en la concentración de saponinas (Estadio 2) en las hojas de *A. americana* L. infectadas por *Phyllosticta* sp.

La aplicación práctica del presente estudio consiste en que se determinó que para la extracción a nivel industrial de saponinas provenientes de las hojas *A. americana* L. infectadas por *Phyllosticta* sp. se debe preferir las hojas cuya infección haya progresado hasta el Estadio 2 (inicial).

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Las hojas de *A. americana* L. presentaron una sola enfermedad con alta incidencia, cuyo agente causal fue *Phyllosticta* sp.
- Las hojas infectadas por *Phyllosticta* sp. de una misma planta de *A. americana* L. presentaron una concentración de saponinas promedio de 2,83 g de Diosgenina/kg de muestra seca.
- En las hojas de *A. americana* L. infectadas por *Phyllosticta* sp., la concentración de saponinas varió con el avance de la enfermedad. Inició con 3,05 g de Diosgenina/kg de muestra seca en el Estadio 1; incrementó (8 %) a 3,29 g de Diosgenina/kg de muestra seca en el Estadio 2; a partir de allí disminuyó, (11 %) a 2,94 g de Diosgenina/kg de muestra seca en el Estadio 3 y, (38 %) a 2,05 g de Diosgenina/kg de muestra seca en el Estadio 4.
- La concentración de saponinas en hojas de *A. americana* L. fue significativamente menor solo cuando el ataque de *Phyllosticta* sp. alcanzó el Estadio 4 (avanzado).
- La metodología utilizada es innovadora y fue creada para el análisis de la concentración de saponinas en hojas de *A. americana* L. infectadas con *Phyllosticta* sp. en Carchi.

5.2. RECOMENDACIONES

- Determinar la concentración de saponinas en las hojas de *A. americana* L. que presenten alta severidad en el Estadio 2 de la infección por *Phyllosticta* sp.
- Se prefiere como materia prima para la extracción de saponinas, a las hojas de *A. americana* L. que no presenten una infección avanzada por *Phyllosticta* sp.
- Calcular el umbral económico de la enfermedad causada por *Phyllosticta* sp. en las hojas de *A. americana* L.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrios, G. (1995). *Fitopatología* (Segunda ed.). Ciudad de México, México: Limusa S.A. De C.V.
- Alcázar, E. (2016). *Caracterización de saponinas de Agave durangensis y salmiana, y su efecto en la pared y membrana celular de Kluyveromyces marxianus y Saccharomyces cerevisiae* (Tesis doctoral). Obtenido de <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjn18qn8oTfAhWLykKHcszDrIQFjAAegQIChAC&url=https%3A%2F%2Fciatej.repositorioinstitucional.mx%2Fjspui%2Fbitstream%2F1023%2F421%2F1%2FEIba%2520Montserrat%2520Alc%25C3%2>
- Benavides, O., Arango, O., Hurtado, A., & Rojas, M. (2012). Cuantificación de Sapogeninas del Jugo Fresco y Fermentado de Figue (*Furcraea gigantea*) mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC-PDA). *Información Tecnológica*, 23(3), 67-76.
- Blunden, G., Yi, Y., & Jewers, K. (1978). Steroidal sapogenins from leaves of Agaveae species [Sapogeninas esteroidales de las hojas de las especies de Agaveae]. *Phytochemistry*, 17, 1923-1925.
- Cervantes, A. (Enero - Abril de 2016). Presencia de saponinas en *Agave* spp. de México. [Figura]. *BIOZ*, 1(1).
- Comité Estatal de Sanidad Vegetal Guanajuato CESAPEG. (s.f.). *Manual de Plagas y Enfermedades del Agave. Campaña Manejo Fitosanitario de Cultivos Perennes*. Irapuato.
- de la Torre, L., Cummins, I., & Logan-Hines, E. (2018). *Agave americana* and *Furcraea andina*: Key Species to Andean Cultures in Ecuador [Agave americana y Furcraea andina: Especies clave para las Culturas Andinas en Ecuador]. *Botanical Sciences*, 96(2), 246-266.
- Díaz, N. (julio-diciembre de 2009). Interacciones moleculares entre plantas y microorganismos: saponinas como defensas químicas de las plantas y su tolerancia a los microorganismos. Una revisión. *RET. Revista de Estudios Transdisciplinarios*, 1(2), 32-55.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations FAO. (2006). CLIMWAT 2.0. Rome, Italy.
- Franco, W., Peñafiel, M., Cerón, C., & Freire, E. (2016). Biodiversidad productiva y asociada en el Valle Interandino Norte del Ecuador. *Bioagro*, 28(3), 181-192.
- García, A. (Julio-Septiembre de 2007). Los agaves de México. *ciencias*, 87, 14-23.
- Ghoghari, A., & Rajani, M. (July de 2006). Densitometric Determination of Hecogenin from *Agave americana* Leaf Using HPTLC [Determinación Densitométrica de Hecogenina de la Hoja de *Agave americana* Usando HPTLC]. *Chromatographia*, 64(1/2), 113-116.

- Güçlü-Üstündağ, Ö., & Mazza, G. (2007). Saponins: Properties, Applications and Processing [Saponinas: Propiedades, Aplicaciones y Procesamiento]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(3), 231-258.
- Guleria, S., & Kumar, A. (2009). Antifungal activity of *Agave americana* leaf extract against *Alternaria brassicae*, causal agent of *Alternaria* blight of Indian mustard (*Brassica juncea*) [Actividad antifúngica del extracto de hoja de *Agave americana* contra *Alternaria brassicae*, agente causal del tizón de *Alternaria* de la mostaza india (*Brassica juncea*)]. *Archives Of Phytopathology And Plant Protection*, 42(4), 370-375.
- Heald, F., & Wolf, F. (Jan. of 1911). New Species of Texas Fungi [Nuevas especies de hongos de Texas]. *Mycologia*, 3(1), 5-22.
- Index Fungorum Partnership. (2018). *Index Fungorum*. Obtenido de <http://www.indexfungorum.org/names/NamesRecord.asp?RecordID=451796>
- Integrated Taxonomic Information System. (2017). *ITIS*. Obtenido de https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=182660&print_version=PRT&source=to_print#null
- Langcake, P., Drysdale, R., & Smith, H. (1972). Post-infectious production of an inhibitor of *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* by tomato plants [Producción postinfecciosa de un inhibidor de *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* por plantas de tomate]. *Physiological Plant Pathology*, 2, 17-25.
- Lavilla, M., & Ivancovich, A. (2016). *Propuestas de escalas para la evaluación, a campo y en laboratorio, del "tizón foliar" y la "mancha púrpura de la semilla", causadas por Cercopora kikuchii, en soja*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA, Estación Experimental Agropecuaria Pergamino "Ing. Agr. Walter Kugler", Pergamino.
- Maublanc, A. (1903). Sur quelques espèces nouvelles de champignons inférieurs [En algunas nuevas especies de hongos inferiores]. En S. M. France, *Bulletin de la Société Mycologique de France* (Vol. XIX, pp. 291-296). Paris.
- Nasri, S., & Ben Salem, H. (2012). Effect of oral administration of *Agave americana* or *Quillaja saponaria* extracts on digestion and growth of Barbarine female lamb [Efecto de la administración oral de extractos de *Agave americana* o *Quillaja saponaria* sobre la digestión y el crecimiento del cordero hembra Barbarine]. *Livestock Science*, 147, 59-65.
- Osbourn, A., Bowyer, P., & Daniels, M. (1996). Saponin Detoxification by Plant Pathogenic Fungi [Destoxificación de Saponina por Hongos Patógenos de Plantas]. En Waller G., & Yamasaki K. (Eds.), *Saponins Used in Traditional and Modern Medicine. Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 404, pp. 547-555). Boston, MA: Springer.
- Parra, L. (2016). Perspectivas del Penco (*Agave* spp.) como Alternativa Ecológica y Económica para el Carchi. En UPEC, *Memorias: I Congreso Internacional Alternativas para el Desarrollo de la Provincia del Carchi* (Primera ed., pp. 297). Tulcán, Carchi, Ecuador: Universidad Politécnica Estatal del Carchi.

- Peana, A., Moretti, M., Manconi, V., Desole, G., & Pippia, P. (1997). Anti-Inflammatory Activity of Aqueous Extracts and Steroidal Sapogenins of *Agave americana* [Actividad Antiinflamatoria de Extractos Acuáticos y Sapogeninas Esteroidales de *Agave americana*]. *Planta Medica*, 63, 199-202.
- Rao, V. (1977/1978). Diseases of Fibre Crops in India [Enfermedades de Cultivos de Fibra en India]. *Sydowia*(30), 164 - 185.
- Red Temática Mexicana Aprovechamiento Integral Sustentable y Biotecnología de los Agaves AGARED. (2017). *Panorama del Aprovechamiento de los Agaves en México*. Guadalajara, México.
- Reynoso, R., García, A., López, W., López, A., Cadena, P., Pérez, M., & Domínguez, M. (julio-agosto de 2012a). Identificación taxonómica de agaves (*Agave* spp.) utilizados para la elaboración del Licor Comiteco en Chiapas, México. *Agro Productividad*, 5(4), 9-17.
- Reynoso, R., López, A., López, W., & Ruiz, J. (2012b). *Áreas potenciales para el cultivo del agave (Agave americana L.) en la Meseta Comiteca, Chiapas* (Primera ed.). Oaxaca, México.
- Santos, L., Rosas, A., Leal, A., & Gutiérrez, J. (2016). Variability in Saponin Content, Cancer Antiproliferative Activity and Physicochemical Properties of Concentrated Agave Sap [Variabilidad en el Contenido de Saponina, Actividad Antiproliferativa del Cáncer y Propiedades Físicoquímicas de la Savia de Agave Concentrada]. *Journal of Food Science*, 81(8), H2069-H2075.
- Sidana, J., Sharma, O., & Singh, B. (October de 2016). Saponins of *Agave*: Chemistry and bioactivity [Saponinas de *Agave*: Química y bioactividad]. *Phytochemistry*, 130, 22-46.
- Singh, R., & Singh, K. (2017). Role of Phytoalexins in Plant Disease Resistance [Rol de las Fitoalexinas en la Resistencia a las Enfermedades de las Plantas]. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(1), 125-129.
- Sistema de Investigación sobre la Problemática Agraria en el Ecuador SIPAE. (2011). *Atlas sobre la Tenencia de la Tierra en el Ecuador*. Quito.
- Sparg, S., Light, M., & van Staden, J. (2004). Biological activities and distribution of plant saponins [Actividades biológicas y distribución de saponinas vegetales]. *Journal of Ethnopharmacology*, 94, 219-243.
- Stevenson, J. (1926). *Foreign plant diseases. A manual of economic plant diseases which are new to or not widely distributed in the United States* [Enfermedades de plantas extranjeras. Un manual de las enfermedades de plantas económicas que son nuevas o no ampliamente distribuidas en los Estados Unidos]. Washington, DC: USDA, Office of the Secretary.
- Stevenson, J. (Sep.- Oct. de 1946). Fungi novi denominati-II [Los hongos denominados nuevos-II]. *Mycologia*, 38(5), 524-533.

- Szakiel, A., Paćzkowski, C., & Henry, M. (2011a). Influence of environmental abiotic factors on the content of saponins in plants [Influencia de los factores abióticos ambientales en el contenido de saponinas en las plantas]. *Phytochem Rev*, *10*, 471-491.
- Szakiel, A., Paćzkowski, C., & Henry, M. (2011b). Influence of environmental biotic factors on the content of saponins in plants [Influencia de los factores bióticos ambientales en el contenido de saponinas en las plantas]. *Phytochem Rev*, *10*, 493-502.
- Ulloa, C. (2018). *Evaluación in vitro de la capacidad inhibitoria de saponinas presentes en el penco (Agave americano) frente a Fusarium sp.* (Tesis de pregrado, Universidad Politécnica Salesiana). Obtenido de <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/15743>
- van Mólken, T., Kuzina, V., Munk, K., Olsen, C., Sundelin, T., van Dam, N., & Hauser, T. (June de 2014). Consequences of combined herbivore feeding and pathogen infection for fitness of *Barbarea vulgaris* plants [Consecuencias de la alimentación herbívora y la infección por patógeno combinadas para el estado de las plantas de *Barbarea vulgaris*]. *Oecologia*, *175*(2), 589–600.
- Vincken, J., Heng, , de Groot, A., & Gruppen, H. (2007). Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom [Saponinas, clasificación y ocurrencia en el reino vegetal]. *Phytochemistry*, *68*, 275-297.
- Wikee, S., Udayanga, D., Crous, P., Chukeatirote, E., McKenzie, E., Bahkali, A., Dai, D., Hyde, K. (2011). *Phyllosticta*—an overview of current status of species recognition [Phyllosticta—una visión general del estado actual del reconocimiento de especies]. *Fungal Diversity*, *51*, 43-61.
- Yang, Y., Laval, S., & Yu, B. (2014). Chemical synthesis of saponins [Síntesis química de las saponinas]. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, *71*, 137-226.

VII. ANEXOS

Anexo 1: Datos de clima y precipitación en la estación meteorológica Tulcán El Rosal.

En base a lo expresado por Agrios (1995) en cuanto a que la temperatura y la humedad (o agua) influyen notablemente en el desarrollo las enfermedades en las plantas. Se recopilaron los datos de dichas variables. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, o en Inglés, Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO] (2006) menciona los datos del clima y precipitación de la estación meteorológica Tulcán El Rosal (Tabla 13). La temperatura media anual es 11,8 °C, con una temperatura mensual media mínima de 6,6 °C y, una temperatura mensual media máxima de 17,0 °C. La Humedad Relativa mensual oscila entre 82 % y 86 %. En cuanto a la precipitación anual es de 891 mm.

Tabla 13. *Clima y precipitación en la estación meteorológica Tulcán El Rosal* ⁽¹⁾

Mes	Temp Min °C	Temp Max °C	Humedad %	Precipitación mm
Enero	6,4	17	84	71,0
Febrero	6,6	17,2	85	72,0
Marzo	6,9	17	85	87,0
Abril	7,1	17,2	85	95,0
Mayo	7	17,2	85	69,0
Junio	6,1	16,4	85	56,0
Julio	5,6	15,9	85	35,0
Agosto	5,2	16,1	83	34,0
Septiembre	5,3	16,9	82	46,0
Octubre	6,5	17,7	84	114,0
Noviembre	6,8	17,8	84	123,0
Diciembre	9,2	17,5	86	89,0
Promedio	6,6	17	84	891,0

Fuente: FAO, (2006). (1): La estación está ubicada en Tulcán, Ecuador, a 2940 msnm, con latitud 0,81°Norte, y longitud 77,70° Oeste.

Anexo 2: Certificados de diagnóstico confirmatorio de *Phyllosticta* sp. y de análisis bacteriológico en hojas de *A. americana* L. de la parroquia Tulcán de la provincia del Carchi.

 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSSANITARIO	LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA Via Interoceánica Km. 14½ y Eloy Alfaro, Granja del MAGAP, Tumbaco - Quito Teléf.: 02-2372-844/2372-845	PGT/FP/09-FO01
	INFORME DE ANÁLISIS	Rev. 4 Hoja 1 de 1

Informe N°: LN-FP-E18-0388

Fecha emisión Informe: 05/04/2018

DATOS DEL CLIENTE

Persona o Empresa solicitante: DIEGO VIZCAINO
 Dirección: Roberto Sierra y Ruta el Arellano Teléfono: 0984041129
 Correo electrónico: diegoviscaino.upec@hotmail.com
 Provincia: Carchi Cantón: Tulcan N° Orden de Trabajo: FP-18-CGLS-0916
 N° Factura / Documento: 13414

DATOS DE LA MUESTRA:

Tipo de muestra:	Hojas	Conservación de la muestra:	Natural.
Cultivo:	Agave americana	Variedad:	No indica
Descripción de síntomas/ daños:	No indica		
País:	Ecuador		
Provincia:	Carchi	Coordenadas:	X: 866718,63
Cantón:	Tulcan		Y: 10092797,50
Parroquia:	Tulcan		Altitud: 2915,81
Responsable de toma de muestra:	Diego Vizcaino		
Fecha de toma de muestra:	25/03/2018	Fecha de inicio de diagnóstico :	26/03/2018
Fecha de recepción de la muestra:	26/03/2018	Fecha de finalización de diagnóstico:	05/04/2018

RESULTADOS DEL ANÁLISIS

IDENTIFICACIÓN BACTERIOLÓGICA				
CÓDIGO DE MUESTRA LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA	PARTE AISLADA	MÉTODO	RESULTADO
FP-18-0360	Agave Americana	Hojas	PEE/FP/05	Negativo

Analizado por: Ing. Jairo Guevara.
 Observaciones: Muestra analizada mediante aislamiento en medio de cultivo. La muestra analizada en el laboratorio de Fitopatología no presenta crecimiento de bacterias fitopatógenas.
 Anexo Gráficos o Anexo Documentos: Ninguno.


 Ing. Hernando Regalado Garcia.
 Responsable Técnico
 Laboratorio Fitopatología



Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha. Está prohibida la reproducción total o parcial de este informe sin autorización del Laboratorio.

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha. Está prohibida la reproducción total o parcial de este informe sin autorización del Laboratorio.

Anexo 3: Resultados del análisis de laboratorio: Concentración de Saponinas Totales en hojas de *A. americana* L. infectadas por *Phyllosticta* sp., en la parroquia Tulcán de la provincia del Carchi.

 Universidad de Nariño	SECCION DE LABORATORIOS INFORME DE RESULTADOS CROMATOGRAFIA	Código: LBE-PRS-FR-165
		Página 1 de 3
		Versión: 01
		Vigente a partir de : 2013/01/11

FECHA: 2018/12/10 **REPORTE No** LC-R-007-18

1. DATOS DEL USUARIO

Solicitante(s): Diego Javier Vizcaino Goyes
Identificación: Cedula de extranjería No 040173319-1
Proyecto: *Concentración de saponinas en hojas de Cabuya Negra (A. Americana Linné) afectadas sanitariamente; en la Parroquia Tulcán Provincia del Carchi.*
Dirección: Universidad Politécnica Estatal del Carchi- Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales. Calle Antisana y Av. Universitaria. Tulcán-Ecuador.
Correo Electrónico: diegovizcaino.upec@hotmail.com

2. DATOS DE LAS MUESTRAS

Número de Muestras Solicitadas: 24
Tipo de Muestra: Muestras de Agave- Material Vegetal
Descripción de la(s) Muestra(s): Ver tabla de resultados
Análisis Solicitado: Saponinas totales (identificación tentativa) por HPLC-DAD
Fecha de Preparación y Análisis: 2018/10/01 a 2018/11/21

3. DESCRIPCION DEL ANÁLISIS

3.1 Equipo: Cromatógrafo Líquidos HPLC Waters Breeze – Bomba Binaria 1525
3.2 Columna: Hypersil Gold Thermo Scientific C18 (250 mm x 4.6 mm x 3.5 µm) a 30°C
3.3 Detector: PDA Waters 2998 a 203 nm y 245 nm (scan a 190-500 nm)
3.4 Inyector: Rheodyne 7725I con Loop de 20µL
3.5 Fase Movil: Acetonitrilo: Agua (70:30). Flujo de fase movil: 0.8 mL/min

3.6 Análisis de Saponinas: Las muestras se cortaron en pequeños trozos, se secaron en horno a 40°C durante tres días y se molieron en un molino de aspas. Una vez las muestras fueron homogenizadas, se pesaron en balanza analítica 2,0 g (± 0,01) y se adicionaron 100 mL de etanol al 90% para la extracción de las saponinas totales. Las muestras se agitaron a 600 rpm durante 2 horas y se conservaron a temperatura ambiente en maceración química por 24 horas. Posteriormente, se filtró y concentró a presión reducida a 40°C. Los extractos fueron disueltos en 3.0 mL de metanol grado HPLC. La identificación tentativa de los compuestos se realizó por comparación de los espectros UV a 203 y 235 nm. Se utilizó soluciones estándar de ácido oleanólico (Sigma-Aldrich, EUA) y Diosgenina para la cuantificación de las saponinas totales.

Ciudad Universitaria Torobajo- Bloque de Laboratorios Especializados- labcromatografia@udenar.edu.co-Telefono 7314477



SECCION DE LABORATORIOS
INFORME DE RESULTADOS CROMATOGRAFIA

Código: LBE-PRS-FR-165

Página 2 de 3

Versión: 01

Vigente a partir de :
2013/01/11

4. RESULTADOS

Los resultados del análisis de saponinas en la muestras se registran en la tabla No 1.

Tabla N° 1
Muestras Agaves UPEC - Análisis de Saponinas por HPLC

Muestras	mg Saponinas Totales	g/kg Saponinas Totales ⁽¹⁾
A1	5,13	2,47
A2	5,21	2,58
A3	4,09	2,02
A4	3,60	1,78
B1	4,89	2,38
B2	5,71	2,83
B3	4,48	2,22
B4	2,29	1,14
C1	3,42	1,70
C2	3,31	1,62
C3	4,11	2,02
C4	4,08	2,04
D1	6,89	3,40
D2	9,56	4,73
D3	9,76	4,83
D4	5,02	2,48
E1	10,61	5,23
E2	7,89	3,93
E3	7,54	3,73
E4	6,29	3,12
F1	6,32	3,13
F2	8,33	4,06
F3	5,71	2,82
F4	3,49	1,74

(1): Expresado en términos de Saponinas totales como g de Diosgenina/ kg de muestra seca

La cuantificación se realizó por sumatoria de las áreas totales de los picos en relación con la calibración de una solución estándar de Ácido Oleanólico y Diosgenina.



SECCION DE LABORATORIOS
INFORME DE RESULTADOS CROMATOGRAFIA

Código: LBE-PRS-FR-165

Página 3 de 3

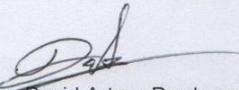
Versión: 01

Vigente a partir de :
2013/01/11

5. OBSERVACIONES

- La identificación de las saponinas en las muestras es tentativa. Para determinar la estructura de estos compuestos se requiere técnicas de análisis LC-MS.
- Los resultados del presente informe aplican únicamente para la muestras entregadas por el usuario al Laboratorio.
- Los resultados descritos en este informe son confidenciales y de propiedad del solicitante.

Cordialmente.


Qce. David Arturo Perdomo
Laboratorio de Cromatografía
Universidad de Nariño



Elaboró: Jessica Basante- David Arturo Perdomo – Laboratorio Cromatografía

Revisó: David Arturo– Laboratorio de Cromatografía

FIN DEL REPORTE

Anexo 4: Certificado o Acta del Perfil de Investigación



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI

FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES
CARRERA DE INGENIERÍA EN DESARROLLO INTEGRAL AGROPECUARIO

ACTA

DE LA SUSTENTACIÓN DEL PLAN DE INVESTIGACIÓN

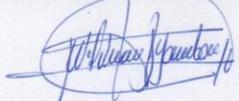
ESTUDIANTE:	DIEGO JAVIER VIZCAÍNO GOYES	CÉDULA DE IDENTIDAD:	0401733191
NIVEL/PARALELO:	Octavo "A"	PERIODO ACADÉMICO:	Octubre 2016 - febrero 2017
DOCENTE TUTOR:	Dra. WILMAN JENNY YAMBAY VALLEJO	DOCENTE LECTOR:	MSc. MARCO RUBÉN BURBANO PULLES
TEMA DE INVESTIGACIÓN:	"Concentración de saponinas en hojas de cabuya negra (Agave americana Linneo) afectadas sanitariamente; en la parroquia Tulcán provincia del Carchi."		
No.	CATEGORIA	Evaluación cualitativa	OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES
1	El problema	3,00	
2	Fundamentación Teórica	3,00	
3	Metodología	3,00	
5	Referencias bibliográficas	3,00	
7	Defensa, argumentación y vocabulario profesional	3,00	
8	Formato del informe de investigación	3,00	
9	Redacción, estilo, ortografía y formato APA	3,00	
10	Calidad y organización de la información	2,00	

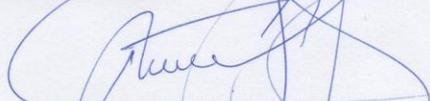
Obteniendo una nota de: **7,00** Por lo tanto, **APRUEBA** ; debiendo el o los investigadores acatar el siguiente artículo:

Art. 15 De la aprobación del Plan de Investigación. - Literal c).- El estudiante tendrá un plazo no mayor de 30 días contados a partir de la fecha de sustentación del plan para presentar el Plan de Investigación REFORMADO en la Secretaría de Carrera, para ser revisado y aprobado por el Tutor y el Lector quienes presentarán en el plazo de 7 días un informe cuali-cuantitativo del proyecto del plan de investigación puesto en su conocimiento. De igual manera registrarán una nota individualizada del proceso de evaluación del plan al director Carrera. El estudiante deberá obtener una nota mínima promediada entre las notas del Tutor y Lector, de 7/ 10 para ser considerado como aprobado el plan de investigación. En la guía metodológica se encontrarán las matrices y rúbricas para la evaluación.

Para constancia del presente, firman en la ciudad de Tulcán el

viernes, 31 de marzo de 2017


Dra. WILMAN JENNY YAMBAY VALLEJO
DOCENTE TUTOR


MSc. MARCO RUBÉN BURBANO PULLES
DOCENTE LECTOR

Anexo 5: Certificado del abstract por parte de idiomas



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI
FOREIGN AND NATIVE LANGUAGE CENTER

ABSTRACT- EVALUATION SHEET				
NAME: Vizcaíno Goyes Diego Javier DATE: 12 de agosto de 2020				
TOPIC: "Concentración de saponinas en hojas de cabuya negra (Agave americana Linneo) afectadas sanitariamente; en la parroquia Tulcán provincia del Carchi."				
MARKS AWARDED		QUANTITATIVE AND QUALITATIVE		
VOCABULARY AND WORD USE	Use new learnt vocabulary and precise words related to the topic	Use a little new vocabulary and some appropriate words related to the topic	Use basic vocabulary and simplistic words related to the topic	Limited vocabulary and inadequate words related to the topic
	EXCELLENT: 2 <input checked="" type="checkbox"/>	GOOD: 1,5 <input type="checkbox"/>	AVERAGE: 1 <input type="checkbox"/>	LIMITED: 0,5 <input type="checkbox"/>
WRITING COHESION	Clear and logical progression of ideas and supporting paragraphs.	Adequate progression of ideas and supporting paragraphs.	Some progression of ideas and supporting paragraphs.	Inadequate ideas and supporting paragraphs.
	EXCELLENT: 2 <input checked="" type="checkbox"/>	GOOD: 1,5 <input type="checkbox"/>	AVERAGE: 1 <input type="checkbox"/>	LIMITED: 0,5 <input type="checkbox"/>
ARGUMENT	The message has been communicated very well and identify the type of text	The message has been communicated appropriately and identify the type of text	Some of the message has been communicated and the type of text is little confusing	The message hasn't been communicated and the type of text is inadequate
	EXCELLENT: 2 <input checked="" type="checkbox"/>	GOOD: 1,5 <input type="checkbox"/>	AVERAGE: 1 <input type="checkbox"/>	LIMITED: 0,5 <input type="checkbox"/>
CREATIVITY	Outstanding flow of ideas and events	Good flow of ideas and events	Average flow of ideas and events	Poor flow of ideas and events
	EXCELLENT: 2 <input type="checkbox"/>	GOOD: 1,5 <input checked="" type="checkbox"/>	AVERAGE: 1 <input type="checkbox"/>	LIMITED: 0,5 <input type="checkbox"/>
SCIENTIFIC SUSTAINABILITY	Reasonable, specific and supportable opinion or thesis statement	Minor errors when supporting the thesis statement	Some errors when supporting the thesis statement	Lots of errors when supporting the thesis statement
	EXCELLENT: 2 <input type="checkbox"/>	GOOD: 1,5 <input checked="" type="checkbox"/>	AVERAGE: 1 <input type="checkbox"/>	LIMITED: 0,5 <input type="checkbox"/>
TOTAL/AVERAGE	9 - 10: EXCELLENT 7 - 8,9: GOOD 5 - 6,9: AVERAGE 0 - 4,9: LIMITED	TOTAL 9		



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI
FOREIGN AND NATIVE LANGUAGE CENTER**

Informe sobre el Abstract de Artículo Científico o Investigación.

Autor: Vizcaíno Goyes Diego Javier

Fecha de recepción del abstract: 12 de agosto de 2020

Fecha de entrega del informe: 12 de agosto de 2020

El presente informe validará la traducción del idioma español al inglés si alcanza un porcentaje de: 9 – 10 Excelente.

Si la traducción no está dentro de los parámetros de 9 – 10, el autor deberá realizar las observaciones presentadas en el ABSTRACT, para su posterior presentación y aprobación.

Observaciones:

Después de realizar la revisión del presente abstract, éste presenta una apropiada traducción sobre el tema planteado en el idioma Inglés. Según los rubrics de evaluación de la traducción en Inglés, ésta alcanza un valor de 9, por lo cual se valida dicho trabajo.

Atentamente



Edison Boanerges Peñafiel Arcos
COORDINADOR CENTRO DE IDIOMAS

Anexo 6: Acta de la sustentación de predefensa del informe de investigación.



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI
FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES
CARRERA DE DESARROLLO INTEGRAL AGROPECUARIO

ACTA

DE LA SUSTENTACIÓN DE PREDEFENSA DEL INFORME DE INVESTIGACIÓN DE:

NOMBRE: Vizcaíno Goyes Diego Javier
NIVEL/PARALELO: 0

CÉDULA DE IDENTIDAD: 0401733191
PERIODO ACADÉMICO: Nov 2020 -Mar 2021

TEMA DE INVESTIGACIÓN: "Concentración de saponinas en hojas de cabuya negra (Agave americana Linneo) afectadas sanitariamente; en la parroquia Tulcán provincia del Carchi."

Tribunal designado por la dirección de esta Carrera, conformado por:

PRESIDENTE: MSC. Julio Jairo Peña Chamorro
LECTOR: MSC. Burbano Pulles Marco Rubén
ASESOR: Dra. Yambay Vallejo Wilman Jenny

De acuerdo al artículo 21: Una vez entregados los requisitos para la realización de la pre-defensa el Director de Carrera integrará el Tribunal de Pre-defensa del Informe de investigación, fijando lugar, fecha y hora para la realización de este acto:

EDIFICIO DE AULAS: 0 **AULA:** Virtual
FECHA: lunes, 23 de noviembre de 2020
HORA: 16H00

Obteniendo las siguientes notas:

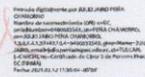
1) Sustentación de la predefensa: 6,59
2) Trabajo escrito 2,90
Nota final de PRE DEFENSA 9,49

Por lo tanto: **APRUEBA CON OBSERVACIONES** ; debiendo acatar el siguiente artículo:

Art. 24.- De los estudiantes que aprueban el Plan de Investigación con observaciones. - El estudiante tendrá el plazo de 10 días laborables para proceder a corregir su informe de investigación de conformidad a las observaciones y recomendaciones realizadas por los miembros Tribunal de sustentación de la pre-defensa.

Para constancia del presente, firman en la ciudad de Tulcán el **lunes, 23 de noviembre de 2020**

JULIO JAIRO
PEÑA
CHAMORRO
MSC. Julio Jairo Peña Chamorro
PRESIDENTE



Dra. Yambay Vallejo Wilman Jenny
TUTOR



MSC. Burbano Pulles Marco Rubén
LECTOR

Adj.: Observaciones y recomendaciones