



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Carrera de Ingeniería Agronómica

Efecto del extracto de *Ruta graveolens*, a tres dosis, mediante tres diferentes métodos de obtención, para la prevención de *Colletotrichum lindemuthianum* en dos variedades de *Phaseolus vulgaris* L.

Trabajo de titulación previo a la obtención del
título de Ingeniero Agrónomo.

AUTORES:

Francisca Elizabeth Andrade Alvarado

C.I. 0350119053

Correo electrónico: paquiss13_@hotmail.com

Edisson Israel Canales Vintimilla

C.I. 0150223246

Correo electrónico: edissonisraelcv12@gmail.com

DIRECTOR:

Ing. Agr. Walter Iván Larriva Coronel

C.I. 0101770865

CUENCA, ECUADOR

30 de noviembre de 2021



RESUMEN

El fréjol es considerado como una de las Fabáceas de mayor importancia en la alimentación para los ecuatorianos, sin embargo; las enfermedades son uno de los principales factores limitantes para su producción, resaltando la antracnosis, que es una enfermedad causada por el hongo *Colletotrichum lindemuthianum*. Debido a la presencia de este hongo en los cultivos, los productores en su mayoría utilizan fungicidas sintéticos para controlar la enfermedad, causando a veces resistencia en el patógeno y dejando residualidad con afectaciones medioambientales, debido al mal manejo de los mismos. Con el objetivo de disminuir el uso de agroquímicos, se busca alternativas naturales o biológicas de prevención; por ello se ha visto la necesidad de evaluar el efecto del extracto de *Ruta graveolens* mediante tres métodos de obtención (macerado, infusión y decocción) a tres dosis (25; 50 y 75%), teniendo en cuenta un control químico (Oxicloruro de cobre 50 PM) y un testigo absoluto para la prevención de *Colletotrichum lindemuthianum* en dos variedades de *Phaseolus vulgaris* L. Se analizó la respuesta a la infección por el hongo, tras la inoculación con el extracto como método preventivo. Para el ensayo se empleó un DBCA, 20 tratamientos, 4 bloques y repeticiones, con un total de 80 unidades experimentales (UE). El extracto etanólico o macerado al 50%, evidenció su efecto preventivo ante la presencia de *C. Lindemuthianum*. Los datos se analizaron mediante ADEVAS y pruebas de significancia de Tukey. El macerado de *Ruta graveolens* es una alternativa potencial para la prevención de *C. Lindemuthianum* en fréjol.

Palabras clave: Prevención. Macerado. Infección. Variedades. Rendimiento. Efectividad.



ABSTRACT

Beans are considered as one of the most important *Fabaceae* in the diet for Ecuadorians, however, diseases are a limiting factors for its production, among which anthracnose, a disease caused by the fungus *C. lindemuthianum* is one of de most important. Due to the presence of this fungus in crops, growers mostly use synthetic fungicides to control the disease, sometimes causing resistance in the pathogen and leaving residues with environmental affectations, when to their mismanaged. In order to reduce the use of agrochemicals, natural or biological prevention alternatives are sought; therefore we deneed necessary to evaluate the effect of *Ruta graveolens* extracts produced using three methods (maceration, infusion and decoction) at three doses (25; 50 and 75%), and to compare their effect against a chemical control (Copper oxychloride 50 PM) and an absolute control for the prevention of *Colletotrichum lindemuthianum* in two varieties of *Phaseolus vulgaris* L. The response to infection by the fungus was analyzed, after inoculation with the extract as a preventive method. For the trial, a DBCA, 20 treatments, 4 blocks and repetitions were used, with a total of 80 experimental units (UE). The ethanolic extract or macerated at 50%, showed a preventive effect in the presence of *C. lindemuthianum*. Data were analyzed using ADEVAS and Tukey significance tests. *Ruta graveolens* maceration is a potential alternative for the prevention of *C. lindemuthianum* in beans.

Keywords: Prevention. Maceration. Infection. Varieties. Yield. Effectiveness.



TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	2
ABSTRACT.....	3
TABLA DE CONTENIDOS.....	4
LISTA DE TABLAS.....	7
LISTA DE GRÁFICOS.....	8
LISTA DE ANEXOS.....	9
ABREVIATURAS Y SIMBOLOGIA.....	10
AGRADECIMIENTOS.....	15
DEDICATORIA.....	16
CAPITULO I.....	17
1.1 INTRODUCCIÓN.....	17
1.2 OBJETIVOS:.....	20
Objetivo general.....	20
Objetivos específicos.....	20
1.3 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	20
CAPITULO II.....	21
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	21
2.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS DEL FRÉJOL.....	21
2.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL FRÉJOL.....	21
2.3 PRODUCCIÓN DE FRÉJOL EN EL MUNDO.....	22
2.4 PRODUCCIÓN DE FRÉJOL EN ECUADOR.....	22
2.5 SUPERFICIE Y PRODUCCIÓN DEL FRÉJOL TIERNO Y SECO EN ECUADOR.....	23
2.6 ETAPAS DEL DESARROLLO FENOLÓGICO DEL FRÉJOL.....	24
2.7 VARIEDADES DE FRÉJOL EN ESTUDIO.....	25
a) Variedad voluble o trepador INIAP 426 (Bola canario).....	25
b) Variedad arbustiva INIAP 429 (Rayado).....	26
2.8 COLLETOTRICHUM LINDEMUTHIANUM (ANTRACNOSIS).....	26
2.9 PÉRDIDAS EN COSECHA.....	27
2.10 RUDA.....	28
2.11 USOS Y PROPIEDADES DE LA RUDA EN LA AGRICULTURA.....	29
2.12 EXTRACTOS VEGETALES.....	29



2.13 MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES	30
Generalidades.....	30
a. Maceración	31
b. Infusión.....	31
c. Decocción	31
2.14 TRATAMIENTO QUÍMICO PREVENTIVO.....	32
CAPITULO III:	33
3. MATERIALES Y MÉTODOS	33
3.1 Zona de estudio.....	33
3.2 Diseño experimental	33
3.3 Análisis de los datos:	34
3.4 Materiales	35
3.4.1 Materiales físicos	35
3.4.2 Materiales biológicos	35
3.4.3 Materiales químicos	36
3.4.4 Equipos	36
3.4.5 Otros.....	36
3.5 MÉTODOS.....	36
3.5.1 Labores pre culturales y culturales:.....	36
3.5.1.1 Preparación del sustrato para siembra.....	37
3.5.1.2 Siembra de semillas.	37
3.5.1.3 Riego.....	37
3.5.1.4 Control y limpieza de maleza.	37
3.5.1.5 Tutorio de la variedad de fréjol voluble.....	38
3.5.1.6 Cosecha	38
3.5.2 Aislamiento de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	38
3.5.3 Metodología en base al cumplimiento de los objetivos planteados.	38
3.5.3.1 MACERACIÓN	39
3.5.3.2 INFUSIÓN.....	40
3.5.3.3 DECOCCIÓN	40
3.5.4 Dosificación	40
3.5.5 Aplicación de los tratamientos e inoculación.....	41
3.6 DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES EVALUADAS:	43
Incidencia.....	43



Severidad.....	43
Número de hojas enfermas.....	43
Número de vainas enfermas.....	43
Número de granos enfermos	43
Rendimiento en peso del grano en verde.....	43
Días a la floración y a la cosecha.....	43
CAPITULO IV	45
4. RESULTADOS.....	45
4.1 Resultados del primer objetivo específico.....	45
4.1.1 Variable Incidencia.....	45
4.1.2 Variable Severidad en hojas y tallos.....	46
4.1.3 Variable Número de hojas afectadas	48
4.1.4 Días a la floración y a la cosecha.....	49
4.1.5 Variable Rendimiento.....	51
4.2 Resultados del segundo objetivo específico.....	52
CAPITULO V	56
DISCUSIÓN.....	56
CAPITULO VI.....	60
CONCLUSIONES.....	60
RECOMENDACIONES	62
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	62
ANEXOS.....	70
Anexo 1 Prueba de significancia para la variable Incidencia.....	70
Anexo 2 Prueba de significancia de la variable severidad en hojas.....	70
Anexo 3 Prueba de significancia de la variable Severidad en tallos.....	71
Anexo 4 Prueba de significancia para la variable Numero de hojas afectadas.....	71
Anexo 5 Prueba de significancia para la variable Rendimiento.....	72
Anexo 6: Memoria fotográfica.....	73



LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación taxonómica del fréjol.....	22
Tabla 2 Superficie y producción de fréjol.....	23
Tabla 3: Desarrollo fenológico del fréjol.	24
Tabla 4 Clasificación Taxonómica de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	26
Tabla 5 Clasificación taxonómica de <i>Ruta graveolens</i>	28
Tabla 6 Tabla explicativa de la conformación de los tratamientos evaluados.	34
Tabla 7 ADEVA de la variable "Incidencia".	45
Tabla 8 ADEVA de la variable "Severidad" en hojas.....	46
Tabla 9 ADEVA de la variable "Severidad" en tallos.....	47
Tabla 10 ADEVA de la variable "Número de hojas afectadas".....	48
Tabla 11 ADEVA de la variable "Rendimiento".	51
<i>Tabla 12 Especificación de los costos para un (1) litro de extracto por tratamiento.</i>	<i>52</i>
<i>Tabla 13 Valoración para el parámetro de efectividad.</i>	<i>53</i>
Tabla 14 Porcentaje de efectividad en base al rendimiento alcanzado por las plantas en cada tratamiento.....	54
Tabla 15 ADEVA de los costos variables.....	55



LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Distribución de bloques y tratamientos del diseño en campo.	33
Gráfico 2 <i>Diferencias entre tratamientos de la variable Incidencia.</i>	46
Gráfico 3 <i>Diferencia entre tratamientos para la variable "Severidad" en hojas.</i>	47
Gráfico 4 <i>Diferencia entre tratamientos para la variable "Severidad en tallos".</i>	48
Gráfico 5 <i>Diferencias entre tratamientos para la variable "Número de hojas".</i>	49
Gráfico 6 <i>Días transcurridos desde la emergencia hasta la floración para ambas variedades en estudio.</i>	50
Gráfico 7 <i>Días transcurridos desde la emergencia de las plántulas, hasta la cosecha en vaina verde de ambas variedades.</i>	50
Gráfico 8: <i>Diferencias entre tratamientos para la variable "Rendimiento".</i>	52
Gráfico 9 <i>Relación "Costo-efectividad"</i>	55



LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 Prueba de significancia para la variable Incidencia.....	70
Anexo 2 Prueba de significancia de la variable severidad en hojas.....	70
Anexo 3 Prueba de significancia de la variable Severidad en tallos.....	71
Anexo 4 Prueba de significancia para la variable Numero de hojas afectadas.....	71
Anexo 5 Prueba de significancia para la variable Rendimiento.....	72
Anexo 6 Memoria fotográfica.....	73



ABREVIATURAS Y SIMBOLOGIA

UE	Unidades Experimentales
PM	Polvo Mojable
F0	Germinación
F1	Emergencia
F2	Hojas primarias
F3	Primera hoja trifoliada
F4	Tercera hoja Trifoliada
F5	Prefloración
F6	Floración
F7	Formación de vainas
F8	Llenado de vainas
F9	Madurez fisiológica
Mm	Método de maceración
Mi	Método de infusión
Md	Método de decocción
T1...T20	Tratamientos
DPI	Días posteriores a la inoculación
DAF	Días a la floración



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Edisson Israel Canales Vintimilla en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Efecto del extracto de *Ruta graveolens*, a tres dosis, mediante tres diferentes métodos de obtención, para la prevención de *Colletotrichum lindemuthianum* en dos variedades de *Phaseolus vulgaris* L.", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 30 de noviembre de 2021.

Edisson Israel Canales Vintimilla

C.I: 0150223246



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Francisca Elizabeth Andrade Alvarado en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Efecto del extracto de *Ruta graveolens*, a tres dosis, mediante tres diferentes métodos de obtención, para la prevención de *Colletotrichum lindemuthianum* en dos variedades de *Phaseolus vulgaris* L.", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 30 de noviembre de 2021.

Francisca Elizabeth Andrade Alvarado

C.I: 0350119053



Cláusula de Propiedad Intelectual

Edisson Israel Canales Vintimilla, autor del trabajo de titulación “Efecto del extracto de *Ruta graveolens*, a tres dosis, mediante tres diferentes métodos de obtención, para la prevención de *Colletotrichum lindemuthianum* en dos variedades de *Phaseolus vulgaris* L.”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 30 de noviembre de 2021.

Edisson Israel Canales Vintimilla

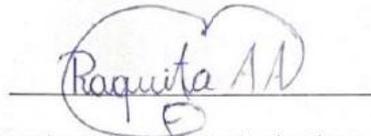
C.I: 0150223246



Cláusula de Propiedad Intelectual

Francisca Elizabeth Andrade Alvarado, autora del trabajo de titulación “Efecto del extracto de *Ruta graveolens*, a tres dosis, mediante tres diferentes métodos de obtención, para la prevención de *Colletotrichum lindemuthianum* en dos variedades de *Phaseolus vulgaris* L.”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 30 de noviembre de 2021.



Francisca Elizabeth Andrade Alvarado

C.I: 0350119053



AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Dios por bendecir nuestro camino a lo largo de la vida, por guiarnos, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad.

A nuestros padres, por ser los pilares fundamentales en nuestro día a día, por su amor y comprensión durante el cumplimiento de nuestro sueño.

Hacemos extensivo nuestro agradecimiento a la Universidad de Cuenca, Carrera de Ingeniería Agronómica, a cada uno de sus docentes, por haber impartido sus conocimientos durante nuestra preparación profesional.

De manera especial agradecemos, al ingeniero Walter Iván Larriva Coronel, tutor de nuestra investigación, quien nos ha sabido guiar de la mejor manera con su experiencia, por su paciencia y entrega para con nosotros; así también, agradecemos a la ingeniera Adriana Tenezaca por ser un gran apoyo durante todo el proceso investigativo. Gracias a todos y cada uno por habernos impulsado para cumplir una meta más en nuestra vida.

Francisca Andrade y Edison Canales.



DEDICATORIA

Dedico esta tesis de manera muy especial a Dios por guiar y cuidar siempre mi camino.

A mis padres, por ser el pilar fundamental en mi vida y ser la fuente de inspiración para seguir adelante.

A mis hermanos por su apoyo incondicional y por los consejos que me hacen ser un mejor ser humano cada día.

Y a mi abuelita que a pesar de no estar hoy en día conmigo, sé que se sentiría muy orgullosa de este logro.

Israel

Mientras seguimos nuestro sendero en la vida vamos cosechando triunfos y fracasos para superar cada etapa que se nos presenta, ahí radica la importancia de las personas que se convierten en el cimiento y soporte de nuestra vida, es por ello que dedico este logro, que es el inicio de un nuevo camino por descubrir.

A mis padres Sandra y Marcelo, por ser mi fuerza y darme el ejemplo de trabajo y perseverancia para cumplir cada uno de mis objetivos.

A Ramiro, por ser mi apoyo y guía incondicional, por su sacrificio y entrega día a día, por sus consejos y sabiduría para escucharme y alentarme a ser cada día mejor, de igual manera a Magdalena, por ser mi ángel y quien guía mis pasos.

A mi hermana por tomarme como su ejemplo a seguir.

A Sebastián por ser quien ha tomado mi mano durante todo este proceso y me ha enseñado que el compromiso, dedicación y amor son fundamentales para emprender los largos caminos de la vida.

Francisca



CAPITULO I

1.1 INTRODUCCIÓN

El fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.), es originario de América, las tribus nómadas a partir de su sedentarismo, fueron domesticando diversas especies alimenticias entre las más importantes: la papa, el fréjol, el arroz, entre otras. Hay evidencias que en el siglo X los Aztecas en México usaron el fréjol como un grano básico y que los Incas lo introdujeron a Suramérica (Velázquez y Giraldo, 2005).

A nivel mundial se producen 18.991.954 de toneladas de fréjol. Ecuador produce 39.725 toneladas, es decir, el 0,2% de la producción mundial (SICA-MAG, 2000). El rendimiento promedio de fréjol registrado en Ecuador es bajo, 430 kg ha⁻¹ en monocultivo y 110 kg ha⁻¹ cuando está asociado con maíz (INEC, 2002), frente al rendimiento potencial del cultivo que sobrepasa los 2.000 kg ha⁻¹ (Torres et al., 2013).

Debido a que el fréjol es un alimento básico en la canasta familiar para los ecuatorianos, los productores tienden a masificar su producción; sin embargo, las enfermedades son uno de los principales factores limitantes en la producción de fréjol, resaltando la antracnosis, la misma que es una enfermedad causada por el hongo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc & Magnus). Las pérdidas en rendimiento por esta enfermedad pueden alcanzar hasta un 90% cuando las variedades susceptibles de fréjol son cultivadas en presencia del patógeno (Fenalce, 2010).

La antracnosis en fréjol, se presenta principalmente en elevaciones por encima de 1000 m.s.n.m. Las temperaturas frescas (13-26 ° C, óptimo de 17° C) y alta humedad relativa (92%- 100%) benefician la propagación del hongo (Saavedra, 2009).

Debido a que el control de enfermedades se realiza principalmente con fungicidas sintéticos, estos pueden provocar resistencia del patógeno, afectaciones al medio ambiente y



por ende a la salud humana (Koul et al., 2008). El uso de fungicidas sintéticos no garantizan un exitoso control del patógeno, dado que pequeñas poblaciones del mismo pueden sobrevivir por diversas razones, tales como: aplicaciones deficientes o inadecuadas del fungicida, resistencia, individuos de la población menos sensibles y que no pueden ser controlados, o la presencia de inóculos procedentes de cultivos vecinos (Céspedes et al., 2014); por lo que hoy en día se ha requerido nuevas alternativas de manejo que sean tanto amigables con el ambiente, como eficientes, siendo necesario evaluar alternativas naturales para prevenir a más de controlar (Bautista et al., 2003).

Existen registros de una gran variedad de investigaciones centradas en estudios sobre la formulación de productos naturales con actividad biológica sobre hongos fitopatógenos, teniendo un porcentaje de eficiencia que cada vez se hace mayor y más rápida (Adekambi et al., 2010), lo que está generando que estas prácticas sean empleadas en un amplio rango de condiciones ambientales, de especies de plagas y de sistemas de cultivos (Gakuya et al., 2013).

Debido a lo anterior, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, reconoce la importancia de las especies vegetales y sus derivados (extractos, aceites esenciales, metabolitos secundarios) en la protección de cultivos bajo el concepto del Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades (MIPE) (Sparks et al., 2017).

Entre las disyuntivas que han mostrado potencial en el control de enfermedades se encuentra, el uso de extractos vegetales (Bautista et al., 2003). Estos extractos han ido ganando interés científico, dado que se ha reportado que presentan acción antibacteriana y antifúngica (Briceño et al., 2011), lo cual se les atribuye a los diferentes metabolitos secundarios que están presentes en los extractos vegetales (Vig et al., 2009).



El uso de fungicidas naturales es y siempre será una muy buena opción, tanto para el pequeño productor como también para las personas que realicen actividades agrícolas en huertas urbanas y peri-urbanas que cultiven productos para su auto consumo.

Por lo tanto, es importante determinar las dosis, y los diferentes métodos de obtención de los extractos naturales y analizar su influencia en la prevención y control de enfermedades en cultivos, como lo es en este caso el *Colletotrichum lindemuthianum* y su huésped el fréjol respectivamente, frente a un compuesto químico de acción preventiva, de esta manera se evaluarán los costos y se recomendará el mejor tratamiento en cuanto a la efectividad del mismo.



1.2 OBJETIVOS:

Objetivo general

Evaluar el efecto del extracto de *Ruta graveolens* a tres dosis, mediante tres diferentes métodos de obtención, para la prevención de *Colletotrichum lindemuthianum* en dos variedades de *Phaseolus vulgaris* L.

Objetivos específicos

- 1) Evaluar el método de obtención, dosis y su eficiencia para prevenir *Colletotrichum lindemuthianum* (antracnosis) en fréjol.
- 2) Analizar y determinar los costos que varían para cada uno de los métodos de obtención y tratamientos en el estudio.

1.3 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe alguna influencia en el método de obtención de los extractos de *R. graveolens* L. y su eficiencia en la prevención de *Colletotrichum lindemuthianum* L. en fréjol?



CAPITULO II

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS DEL FRÉJOL

Nuestros antepasados fueron cazadores-recolectores durante más de un millón de años. Durante el periodo de 3000 a 8000 años a. C., aparecieron las primeras sociedades sedentarias, dando lugar a la domesticación de una gran variedad de plantas y animales en diferentes regiones del mundo, entre ellas Mesoamérica y los Andes en el continente americano (Hernández, Vargas, Muruaga y Mayek, 2013).

Las domesticaciones en diferentes tiempos y espacio han sido claves en la diversidad genética presente en los cultivos actuales. Ejemplos documentados de domesticaciones múltiples en distintas especies en el continente americano son el Ají (*Capsicum* sp.) (Pickersgill, 1989), la calabaza (*Cucurbita* sp.) (Sanjur, Piperno, y Wessel, 2002) y el fréjol (*Phaseolus* sp.) (Zizumbo y Colunga, 2010).

2.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL FRÉJOL

Según Valladares (2010), la clasificación taxonómica del fréjol se detalla de la siguiente manera (Tabla 1):



Tabla 1 Clasificación taxonómica del fréjol.

REINO	Plantae
DIVISIÓN	Magnoliophyta
CLASE	Magnoliopsida
ORDEN	Fabales
FAMILIA	Fabaceae
GÉNERO	<i>Phaseolus</i>
ESPECIE	<i>P.</i> <i>vulgaris</i> L.

Fuente: Valladares (2010)
Elaborado por: Andrade & Canales, 2021.

2.3 PRODUCCIÓN DE FRÉJOL EN EL MUNDO

El fréjol es la fabácea de consumo humano más importante en el planeta; ocupa el octavo lugar entre las fabáceas sembradas en el mundo (Velázquez y Giraldo, 2005).

El fréjol tiene una importancia alimenticia mundial para cerca de 300 millones de personas, que en su mayoría viven en países en desarrollo, es conocido como “la carne de los pobres”, siendo un alimento poco costoso para consumidores de bajos recursos (Velázquez y Giraldo, 2005).

2.4 PRODUCCIÓN DE FRÉJOL EN ECUADOR

En el Ecuador el fréjol es la fabácea de mayor área de cultivo y consumo (Garver et al., 2008), actualmente se cosecha 89,789 hectáreas de las 105,127 ha, en grano seco y 15,241 ha en verde o tierno (INEC, 2002).



Las principales enfermedades que atacan al cultivo de fréjol en Ecuador son: roya (*Uromyces appendiculatus*), antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum*) y mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*) (Murillo et al., 2004).

Existen diversos factores que causan que el rendimiento del fréjol sea bajo, el principal es el uso de semilla reciclada y de mala calidad, debido a que la mayoría de pequeños productores no tienen acceso a la semilla mejorada o seleccionada. Las semillas recicladas de mala calidad son susceptibles a plagas y enfermedades, y tienen bajo potencial de rendimiento (González y Zandate, 2006).

Según PROFRIZA (2000), el 95% del fréjol que se cultiva en el Ecuador, se produce en las provincias de la Sierra, sin embargo, el consumo per cápita de fréjol puede variar de una región a otra. Así también, el consumo se ve afectado por el estatus social y económico de las familias (Singh, 1999).

En Ecuador, el consumo promedio de fréjol por persona es de 4 kg/año (FAO, 2005), un valor relativamente bajo si se lo compara con otros países de Latinoamérica.

Sin embargo, el consumo puede superar los 40 kg/año en las zonas de mayor producción de fréjol, como, en los valles del Chota y Mira (PRONALEG, 2005).

2.5 SUPERFICIE Y PRODUCCIÓN DEL FRÉJOL TIERNO Y SECO EN ECUADOR.

Las mayores productoras de fréjol en Ecuador, son las provincias de Bolívar, Azuay, Imbabura y Chimborazo (Tabla 2).

Tabla 2 Superficie y producción de fréjol

Provincias	Superficie sembrada (ha)		Producción (t)	
	Fréjol tierno	Fréjol seco	Fréjol tierno	Fréjol seco
Total Nacional	13,872	25,855	11,867	9,926



Imbabura	2,982	2,109	3,843	1,385
Chimborazo	1,240	-	1,786	-
Azuay	3,286	11,489	1,482	2,999
Bolívar	-	3,467	-	1,499
Otros	6,364	8,790	4,757	4,042

Fuente: (MAGAP, 2014)

Elaborado por: Andrade & Canales, 2021.

2.6 ETAPAS DEL DESARROLLO FENOLÓGICO DEL FRÉJOL

Las etapas del ciclo biológico de crecimiento del fréjol varían en número de días de acuerdo a la variedad y tipo de crecimiento del fréjol, así como también influye las condiciones climáticas, condiciones de suelo y presencia de plagas y enfermedades. Sin embargo, el ciclo fenológico comprende las fases que se detallan a continuación (Tabla 3):

Tabla 3: Desarrollo fenológico del fréjol.

Etapas	Descripción
F0	Germinación: La semilla después de absorber el agua, emerge la radícula y esta se transforma en la raíz primaria.
F1	Emergencia: Los cotiledones aparecen a nivel del suelo y empiezan a separarse. El vástago comienza su desarrollo.
F2	Hojas primarias: Son dos hojas unifoliadas totalmente abiertas.
F3	Primera hoja trifoliada: En esta etapa emerge la primera y segunda hoja trifoliada.
F4	Tercera hoja trifoliada: Se abre la tercera hoja trifoliada y las yemas de los nudos inferiores producen ramas.
F5	Prefloración: Aparece el primer botón floral. En las variedades determinadas se forman en el último nudo del tallo o de la rama. En las variedades indeterminadas los racimos aparecen primero en los nudos más bajos.
F6	Floración: Empieza la apertura de la primera flor.
F7	Formación de vainas: Aparece la primera vaina que mide aproximadamente 2.5 cm de longitud.



- F8 **Llenado de vainas:** Comienza el crecimiento de semilla. Al final de esta etapa, las semillas pierden su color verde y muestran las características de cada variedad en verde.
- F9 **Madurez fisiológica:** Las vainas pierden su pigmentación y comienzan a secarse. Las semillas desarrollan el color típico de la variedad en seco.
-

Fuente: (CIAT, 1987).

Elaborado por: Andrade & Canales, 2021.

2.7 VARIEDADES DE FRÉJOL EN ESTUDIO

Para el presente estudio se evaluó el comportamiento de dos variedades de fréjol que se consumen en Ecuador.

a) Variedad voluble o trepador INIAP 426 (Bola canario)

El fréjol voluble se siembra principalmente asociado con maíz en altitudes entre 2200 y 2800 m.s.n.m. El fréjol constituye un factor importante en los sistemas de producción de pequeños y medianos agricultores de las zonas maiceras de la Sierra ecuatoriana (INIAP, 2000).

Los colores y tipos de grano de fréjol predominantes en el sistema asociativo con el maíz son: canarios, bayos, rojos y blancos redondos, estos generalmente se caracterizan por ser tardíos, agresivos con el maíz y presentan susceptibilidad a enfermedades como la roya (*Uromyces appendiculatus*) y antracnosis (*Collectotrichum lindemuthianum*) (INIAP, 2000).

En Ecuador, el 89% de los productores de fréjol voluble cultivan la variedad canario y el porcentaje restante cultivan tanto canario como panamito. La semilla que utilizan en general los pequeños productores, es semilla reciclada, los productores seleccionan el grano de la cosecha anterior para la siguiente siembra, sin embargo; esta selección no garantiza el éxito de posteriores cosechas debido a que las plantas pueden presentar enfermedades o susceptibilidad a plagas, afectando a la producción (Erazo, 2005).



El ciclo de producción de la variedad **Bola canario** comprende los 165 días en verde y 190 días en seco (Torres et al., 2013).

El rendimiento promedio por hectárea es 2407 kg ha⁻¹ en seco y en grano verde, hasta los 10,820 kg ha⁻¹ (Torres et al., 2013).

Los costos de producción para la variedad de fréjol canario en una zona productora de Ecuador, considerando que la mano de obra es el núcleo familiar en cada zona de cultivo, según datos actualizados al año 2013, para esta variedad de fréjol es de \$1,172.00 ha⁻¹ (Torres et al., 2013).

b) Variedad arbustiva INIAP 429 (Rayado)

El fréjol arbustivo ya sea en estado tierno o seco, aportan gran cantidad de nutrientes en la población rural y urbana del país, puede ser producido a una altitud entre 1400 – 2400 m.s.n.m con un rango de temperatura de 12 – 28 °C, siendo este muy importante en sistemas de producción ecuatoriana (Murillo, Peralta, Mazón, Pinzón, 2004).

El fréjol arbustivo rayado, es una variedad de fréjol con una excelente adaptabilidad al medio y alta resistencia a virus del mosaico común (BCMV). Posee un alto rendimiento productivo teniendo esta variedad, resistencia genética múltiple (Murillo et al., 2014).

La duración del ciclo de esta variedad fluctúa entre 80 a 90 días en tierno y en seco 110 a 115 días. Con un costo de producción de \$1147,48 ha⁻¹. (Murillo et al., 2014).

El rendimiento promedio del fréjol rayado es de 5,400 kg ha⁻¹ en verde y 1700 kg ha⁻¹ en seco (Murillo et al., 2014).

2.8 COLLETOTRICHUM LINDEMUTHIANUM (ANTRACNOSIS)

Tabla 4 Clasificación Taxonómica de *Colletotrichum lindemuthianum*.



REINO	Fungi
Filo	Ascomycota
CLASE	Sordariomycetes
ORDEN	Phyllachorales
FAMILIA	Phyllachoraceae
GÉNERO	<i>Collectotrichum</i>
ESPECIE	<i>C. lindemuthianum</i>

Elaborado por: Andrade & Canales, 2021.

Fuente: (Peralta, 2013)

El rango de propagación de este patógeno depende del hospedante en el cual se alberga (Rojo, et al., 2017).

Collectotrichum es un hongo fitopatógeno causante de muchas enfermedades como cánceres, pudriciones entre otras dependiendo del hospedante. Los síntomas son visibles en la planta y se presentan como lesiones semicirculares con hundimientos en forma de anillos. Y su rango de acción es muy variado, es decir, está presente en muchas variedades de plantas. (Rojo, et al., 2017).

Esta enfermedad es de las más importantes en el mundo y ataca a los cultivos presentes en zonas tropicales y subtropicales con condiciones climáticas favorables para su desarrollo, es decir, la precipitación y humedad relativa alta, dando lugar a brotes epidémicos en las plantas (Pérez, Saquero y Beltrán, 2003).

2.9 PÉRDIDAS EN COSECHA

Collectotrichum lindemuthianum (Antracnosis), es una enfermedad que puede ocasionar grandes pérdidas en cosecha de fréjol con cifras cercanas al 95% dependiendo de la



variedad. Los síntomas se presentan como hundimientos circulares a lo largo de la vaina, en los tallos se presentan como chancros que impiden el paso de los nutrientes (Vanegas, 2014).

La enfermedad también puede ocasionar daños a la semilla decolorándola siendo este un síntoma extremo difícil de percibir por sus características asintomáticas, la cual es preferible evitar, usando semilla certificada (Vanegas, et al., 2014).

La mejor manera de evitar las pérdidas de cosecha por *C. lindemuthianum*, es utilizar variedades resistentes, que nos permitan adquirir ventajas económicas y ambientales (Rodríguez et al., 2018).

De acuerdo a la información consultada, las variedades con mayor y menor susceptibilidad deben ser utilizadas según la zona productiva y condiciones climáticas, con el fin de evitar la propagación de *C. lindemuthianum*.

2.10 RUDA

Clasificación taxonómica

Tabla 5 Clasificación taxonómica de *Ruta graveolens*.

REINO	Plantae
DIVISIÓN	Magnoliophyta
CLASE	Magnoliopsida
ORDEN	Sapindales
FAMILIA	Rutáceae
GÉNERO	<i>Ruta</i>
ESPECIE	<i>R. graveolens</i>

Fuente: (Missouri Botanical Garden, 2009)

Elaborado por: Andrade & Canales, 2021.



La ruda es originaria del sur de Europa y del Mediterráneo Oriental, actualmente es cultivada en diversas partes del mundo. En Ecuador, la ruda es una especie introducida y está distribuida en muchos lugares de la Sierra, entre los 2500 y 3000 m.s.n.m., principalmente en las provincias de Bolívar, Chimborazo, Pichincha, Tungurahua, Azuay, Cañar y Cotopaxi (Vacas et al., 2008).

La ruda es una planta aromática que produce diversos metabolitos secundarios con propiedades fungicidas (Briceño et al., 2011).

Esta planta posee diferentes principios activos, pero el glucósido flavonoide rutina ($C_{27}H_{30}O_{16}$) es su principal componente, localizado principalmente en las hojas (Pernichi, 1998).

2.11 USOS Y PROPIEDADES DE LA RUDA EN LA AGRICULTURA

En el campo agrícola, el extracto de ruda se emplea como insecticida natural en el manejo de algunas plagas como saltamontes, insectos trozadores, hormigas y pulgones; como nematocida y fungicida para controlar antracnosis y hongos resistentes; como desinfectante natural de suelos y para combatir el gorgojo del maíz (Vacas et al., 2008).

2.12 EXTRACTOS VEGETALES

La tendencia mundial muestra que el uso de las plantas y los derivados obtenidos a partir de estas, aumenta de manera considerable en el control de plagas y enfermedades importantes, debido a que tienen la capacidad de sintetizar una gran diversidad de metabolitos secundarios relacionados con diferentes mecanismos de defensa, muchos de estos con propiedades antimicrobianas (Ávalos y Carril, 2009).

Estos metabolitos tienen una función importante en la protección ante depredadores, microorganismos patógenos y herbívoros, así como diversos tipos de estrés abiótico (Ávalos y Carril, 2009).



Se ha evidenciado que las plantas tienen funciones biológicas y químicas de defensa, por lo que gran variedad de estos compuestos pueden tener actividad biológica sobre hongos (Saravanakumar et al., 2015).

En el caso de la ruda, presenta compuestos fenólicos como los flavonoides, están presentes en el sistema de defensa de las plantas mediante la modificación de tejidos proporcionando: dureza o rigidez, toxinas que actúan como repelentes, la inhibición enzimática por oxidación, algunas implicadas en procesos de transcripción y reparación del ADN, generando muerte celular (Saravanakumar et al., 2015).

La actividad biológica de un extracto con respecto a un hongo varía en función de forma de preparación (solvente, seco, fresco, tiempo de almacenamiento, etc.), especie botánica, órgano de la planta (raíces, hojas, semillas, etc.), fecha de cosecha, entre otras (Bettioli et al., 2014).

Singh (2014), nos menciona que más de 2.500 especies de plantas poseen actividad biológica contra algún tipo de plaga y enfermedad; sin embargo, únicamente del 1 al 10% de las plantas descubiertas y evaluadas tienen un potencial de producir metabolitos secundarios biológicamente activos contra plagas y enfermedades.

2.13 MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES

Generalidades

Un extracto vegetal es una mezcla compleja de principios activos. Este puede ser líquido, semisólido o en polvo y se puede obtener por procesos físicos, químicos y/o microbiológicos, a partir de una fuente vegetal (UDELAR, 2001).

El proceso para obtener extractos vegetales es variable, de manera que, los componentes se obtienen en conjunto al momento de extraer de los diferentes órganos tales



como, raíces, hojas, brotes, tallos, flores y frutos previamente triturados con un tamaño de partícula explícito y en contacto con cantidad determinada de solvente (Mesa et al., 2015).

Entre las técnicas de extracción se encuentra la percolación, el arrastre con vapor, extractos acuosos, etanólicos, aceites esenciales. Posterior a la extracción, la mezcla es filtrada, el material insoluble es lavado con el mismo solvente y los filtrados se mezclan para concentrar el extracto (Mesa et al., 2015).

Existen diferentes métodos de obtención de extractos naturales, sin embargo, para este estudio hemos seleccionado tres métodos, los cuales se detallan a continuación.

a. Maceración

La maceración consiste en poner el material crudo con el grado de finura que se crea conveniente, en contacto con el solvente, en recipientes o equipos cerrados, protegiéndolos de la luz solar, a temperatura ambiente y por un tiempo que puede variar entre horas o varios días en maceración. Se realizan agitaciones ocasionales (Pérez, 2009).

Los solventes más utilizados en la maceración son: agua, glicerina o mezclas hidroalcohólicas (Kuklinski, 2003)

b. Infusión

Este método se aplica con el uso de las partes blandas de la planta (hojas y flores). Consiste en sumergir el material vegetal seco y molido, en agua a una temperatura próxima a la de la ebullición o menor, durante 1 a 2 minutos, después se filtra (Cubides y González, 2002).

c. Decocción

El material vegetal se pone en contacto con agua y se lleva a ebullición, se mantiene durante 5 a 30 minutos. Generalmente se aplica este método usando partes



leñosas de la planta y el tiempo de cocción dependerá de las características de dicha planta (Endara et al., 2008).

2.14 TRATAMIENTO QUÍMICO PREVENTIVO

Comúnmente la prevención y el control de antracnosis y de otros patógenos más, se lleva a cabo por medio de químicos como el procloraz, oxiclورو de cobre, captan, ortocida, carbendazin, clorotalonil, y la combinación de sulfato cúprico y cal hidratada, cuya aplicación repetitiva de alguno de estos fungicidas puede generar resistencia en el patógeno (Aguilar et al., 2013).

En la presente investigación el tratamiento químico que se empleó es Oxiclورو de cobre 50 PM. Este es un fungicida y bactericida excelente para tratar problemas con mildius, alternaria, bacteriosis y antracnosis entre otros. Su acción es preventiva y protectora, de aplicación foliar.

Su dosis de aplicación para este estudio será de acuerdo a las recomendaciones del fabricante.

CAPITULO III:

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Zona de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en el laboratorio de Fitopatología e invernadero de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca.

3.2 Diseño experimental

El estudio se basó en un diseño de bloques completamente al azar, con 20 tratamientos y 4 repeticiones, con un total de 80 Unidades Experimentales (UE) y cada UE constituida de diez (10) plantas de fréjol. Se sorteó el orden los tratamientos y bloques, como se puede observar en el siguiente gráfico (Gráfico 1):

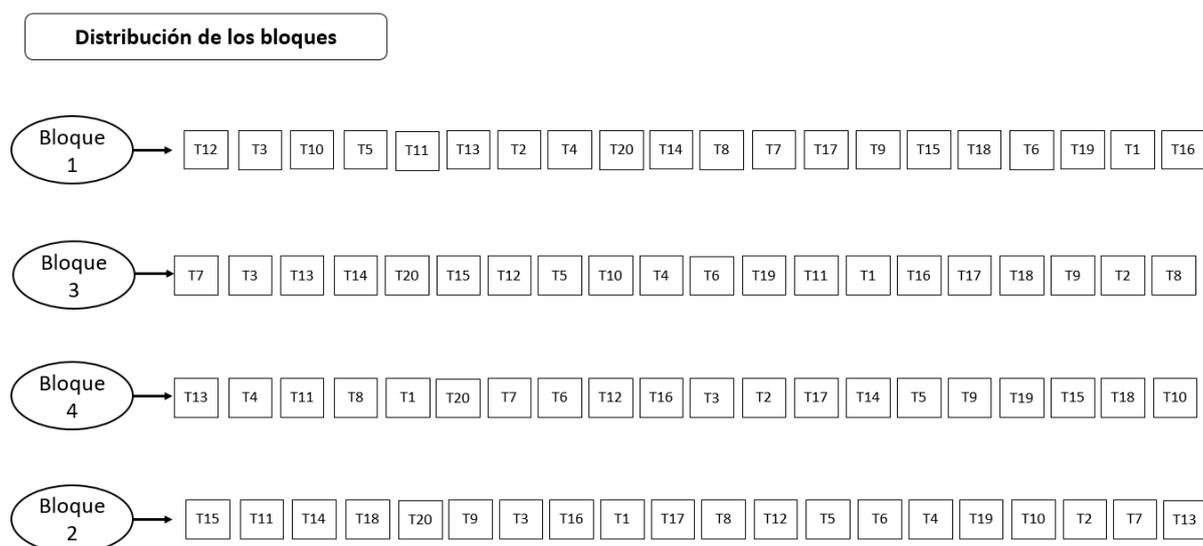


Gráfico 1 Distribución de bloques y tratamientos del diseño en campo.



Los tratamientos T1, T2, T3...T18, están constituidos por: la concentración + método de obtención + la variedad; el tratamiento 19 es el control químico (Oxicloruro de cobre 50 PM) y el tratamiento 20 es el testigo absoluto. En la siguiente tabla (Tabla 6) se puede apreciar la distribución de los tratamientos empleados.

Tabla 6 Tabla explicativa de la conformación de los tratamientos evaluados.

Tratamientos	Conformación	Unidades experimentales	Bloques y repeticiones
T1	C25%+Mm+V1	10 plantas	Bloques y repeticiones 1,2,3 y 4
T2	C25%+Mi+V1	10 plantas	
T3	C25%+Md+V1	10 plantas	
T4	C25%+Mm+V2	10 plantas	
T5	C25%+Mi+V2	10 plantas	
T6	C25%+Md+V2	10 plantas	
T7	C50%+Mm+V1	10 plantas	
T8	C50%+Mi+V1	10 plantas	
T9	C50%+Md+V1	10 plantas	
T10	C50%+Mm+V2	10 plantas	
T11	C50%+Mi+V2	10 plantas	
T12	C50%+Md+V2	10 plantas	
T13	C75%+Mm+V1	10 plantas	
T14	C75%+Mi+V1	10 plantas	
T15	C75%+Md+V1	10 plantas	
T16	C75%+Mm+V2	10 plantas	
T17	C75%+Mi+V2	10 plantas	
T18	C75%+Md+V2	10 plantas	
T19	Oxicloruro de cobre	10 plantas	
T20	Testigo absoluto	10 plantas	

En donde, "C" es la concentración; "Mm, Mi y Md" (Mm: "maceración"; Mi: "infusión" y Md: "decocción") son los diferentes métodos de obtención y "V1 y V2" son las variedades (V1: "Canario" y V2: "Rayado"). Cada tratamiento consta de 10 plantas como unidad experimental. Los tratamientos y bloques fueron sorteados.

3.3 Análisis de los datos:

Los resultados del estudio se analizaron mediante pruebas bondad de ajuste de Kolmogorov Smirnov ya que son mas de 50 unidades experimentales, para verificar la



normalidad de los datos . Demostrando normalidad de los datos, se realizaron ANOVAS y pruebas de significancia de Tukey, mediante el software Infostat E20.

3.4 Materiales

3.4.1 Materiales físicos

- ✓ Equipo de laboratorio (mandil, cofia, guantes y mascarilla).
- ✓ Cajas Petri estériles.
- ✓ Erlenmeyer.
- ✓ Vasos de precipitación.
- ✓ Mecheros.
- ✓ Tarrinas.
- ✓ Atomizadores.
- ✓ Gasa estéril.
- ✓ Papel filtro.
- ✓ Envases de vidrio.

3.4.2 Materiales biológicos

- ✓ Semillas de fréjol.
- ✓ Bocashi.



- ✓ Cepas de *Colletotrichum lindemuthianum*.

- ✓ Plantas de *Ruta graveolens*.

3.4.3 Materiales químicos

- ✓ Agua destilada estéril.
- ✓ Oxidloruro de cobre 50 PM
- ✓ Etanol 96 %.
- ✓ Medio de cultivo PDA.

3.4.4 Equipos

- ✓ Autoclave TUTTNAUER 3870 M
- ✓ Cámara de flujo laminar ESCOCLASS 11BSC
- ✓ Cámara de Neubauer. MARIENFELD
- ✓ Refrigerador. INDURAMA
- ✓ Microscopio NIKON
- ✓ Incubadora MEMMERT IN 110
- ✓ Balanza FISHER SCIENCE EDUCATION AFL204
- ✓ Isoterm FISHER SCIENCE EDUCATION

3.4.5 Otros

- ✓ Sustrato

- ✓ Agua corriente

3.5 MÉTODOS

3.5.1 Labores pre culturales y culturales:



3.5.1.1 Preparación del sustrato para siembra.

El sustrato constó de una mezcla de tierra con bocashi, cabe recalcar que el último se empleó solo para brindar nutrientes para el crecimiento de la planta, ya que siempre se ocupa enmiendas ya sea orgánicas o químicas para el correcto desarrollo de las plantas y como prevención ante una posible deficiencia nutricional. En total para el experimento fueron necesarios, 10 sacos (de 45 kg) de tierra y 4 sacos (de 45 kg) de bocashi.

3.5.1.2 Siembra de semillas.

Se sembró el material vegetal de las dos variedades de *Phaseolus vulgaris* L. en tarrinas plásticas de 1 litro. Se colocó tres semillas por tarrina, una vez que las semillas emergieron y alcanzaron una altura de 5 cm, se procedió a ralea las plántulas, dejando una sola planta por tarrina.

3.5.1.3 Riego.

El riego se realizó mediante el uso de regaderas, simulando la acción natural de la lluvia, se regó a las plantas pasando un día, asegurándonos que el sustrato siempre permanezca húmedo hasta la etapa final de la floración, a partir de la etapa de llenado de la vaina hasta la cosecha se procuró mantener el sustrato siempre húmedo.

3.5.1.4 Control y limpieza de maleza.

Debido a que las plantas permanecieron en tarrinas, no hubo presencia significativa de malezas; sin embargo, aquellas que se presentaron fueron eliminadas manualmente.



3.5.1.5 Tutorio de la variedad de fréjol voluble.

Cuando las plantas de fréjol de la variedad bola canario, crecieron y dio inicio a la elongación del tallo, se procedió a ponerles un tutor, que consistió en el uso de piolas, las cuales estuvieron sujetas a un alambre ubicado en la parte superior de las mismas.

3.5.1.6 Cosecha

Se efectuó en grano tierno o verde, cuando las vainas presentaron el llenado máximo de grano. Para la variedad de fréjol voluble bola canario (INIAP 426), los días que pasaron desde la siembra a la cosecha fueron de 147 días y la arbustiva variedad rayado (INIAP 429) a los 100 días.

3.5.2 Aislamiento de *Colletotrichum lindemuthianum*.

Para obtener el patógeno en estudio, se procedió a aislar el mismo de una vaina que mostró presencia de síntomas y signo de *Colletotrichum*. Posteriormente, con la ayuda de un microscopio, se identificó el hongo aislado.

Luego, en una cámara de bioseguridad tipo II se sembró el hongo aislado en medio PDA y se colocó en una incubadora a 25°C, para luego que este creció y esporuló respectivamente, confirmar su identidad. De esta caja Petri se procedió a realizar una siembra monosporal, cuyo crecimiento sirvió para replicar (multiplicar) posteriormente el hongo patógeno.

3.5.3 Metodología en base al cumplimiento de los objetivos planteados.

Objetivo específico 1:



Evaluar el método de obtención, dosis y su eficiencia para prevenir *Colletotrichum lindemuthianum* (antracnosis) en fréjol.

Método:

Se evaluó los métodos de obtención del extracto de ruda, para ello se realizó la metodología para cada uno. Se explica detenidamente a continuación:

3.5.3.1 MACERACIÓN

- 1) Se colocó el material vegetal (500 g, toda la planta picada finamente, excepto la raíz) en el recipiente de boca ancha y se agregó 2 L de solvente etanol al 96 % y 1 L de agua, con el objetivo de cubrirlo completamente.
 - 2) Se reservó por 24 horas a temperatura ambiente, luego se procedió a decantar y filtrar con papel filtro y gasas estériles. Se colocó nuevamente en el recipiente de boca ancha para realizar un segundo filtrado.
 - 3) Después de 24 horas del segundo filtrado se recopiló el macerado en recipientes ámbar y se almacenó en el refrigerador a 4 °C.
 - 4) El extracto filtrado se mantuvo almacenado en obscuridad a 4 °C hasta su uso.
- Para este método de extracción se utilizó frascos de vidrio de 1 L de capacidad para reservar el producto macerado.



3.5.3.2 INFUSIÓN

- 1) Para este método en primera instancia se realizó el secado del material vegetal, para ello, se ejecutó con el método de secado natural, que consiste en atar el material boca abajo durante un lapso de 7 a 8 días.
- 2) Con el material seco y triturado se lo sumergió en agua a temperatura próxima a la ebullición, durante 15 minutos.
- 3) Una vez transcurridos los 15 minutos, se filtró el material vegetal.
- 4) Finalmente se almacena en recipientes ámbar de 1 L, en condiciones de 4°C hasta ser usado.

3.5.3.3 DECOCCIÓN

- 1) Se lavó y se desinfectó el material vegetal (500g, toda la planta picada finamente, excepto la raíz).
- 2) Se trituró el material vegetal y se puso en contacto con agua en ebullición, se mantiene durante 15 minutos en ebullición constante.
- 3) Posteriormente se filtró el extracto y se reservó en recipientes ámbar en refrigeración hasta el uso.

3.5.4 Dosificación

Para determinar la efectividad del método se procedió a cumplir con la dosificación siguiente para todos los métodos de extracción.

Las dosis que se aplicó fueron del 25; 50 y 75% de concentración de extracto de ruda de cada método de obtención, como se indica en la siguiente figura (Figura 1):

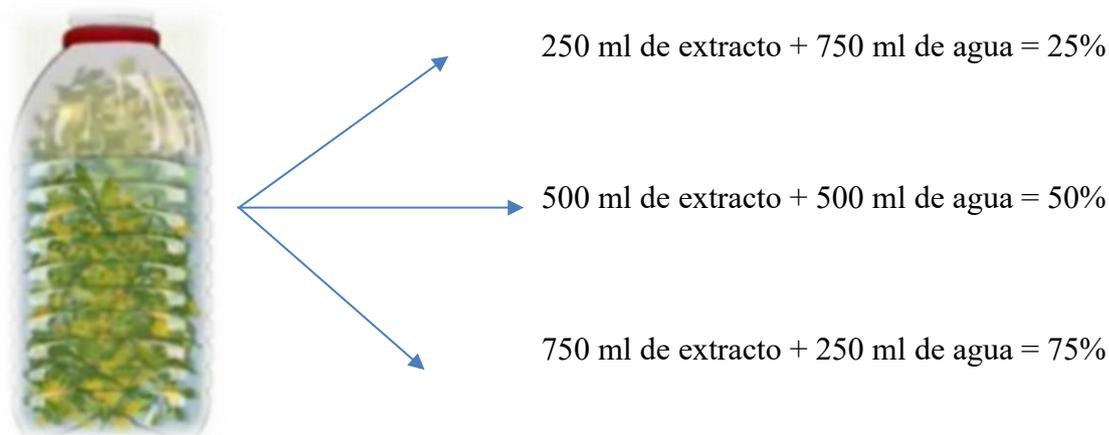


Figura: 1 Dosificación del extracto de ruda para los tres métodos de obtención.

Elaborado por: Andrade & Canales, 2021.

3.5.5 Aplicación de los tratamientos e inoculación.

Se cumplió con el siguiente procedimiento:

- 1) Luego de dosificar, se procedió a colocar la solución de los extractos en los atomizadores.
- 2) Se aplicó a toda la planta, tanto en el haz como en el envés de las hojas cuando estaban en la etapa fenológica F6 y F7, es decir, en **floración y formación del fruto**.
- 3) Se realizó tres aplicaciones (una aplicación cada siete días).
- 4) Al mismo tiempo y con la misma frecuencia, se aplicó el tratamiento químico testigo Oxicloruro de cobre 50 PM (Polvo mojable) de acción preventiva.
- 5) El tratamiento químico se aplicó con una dosis de 3 gramos por cada litro de agua. Esto está calculado de acuerdo a la recomendación de la casa comercial.
- 6) Pasado un lapso de 48 horas de la última (tercera) aplicación de los tratamientos (tiempo de asimilación de los tratamientos en la planta) se procedió a inocular las plantas con el hongo.
- 7) Se preparó el inóculo. Para ello se siguió el procedimiento descrito a continuación:



- 7.1) Al momento en que el hongo *Colletotrichum lindemuthianum*, esporuló completamente en las cajas Petri, se incrementó el volumen de inóculo, para ello, se añade 10 ml de agua destilada estéril a cada caja de Petri, se raspa la superficie del medio para obtener la suspensión de conidias.
- 7.2) Posteriormente, se procedió a filtrar a través de una doble capa de gasa estéril, para extraer la masa del micelio y los restos de medio de cultivo (Awale et al., 2008).
- 7.3) Se hizo un conteo de esporas, ajustando a 1.2×10^6 conidios mL^{-1} , en la cámara de Neubauer (Awale et al., 2008; Ferreira et al., 2008; Vega, 2011).
- 8) Finalmente se inoculó por aspersión a las hojas, por el haz y el envés (González et al., 2004; Awale et al., 2008).
- 9) Para el proceso detallado anteriormente, las plantas permanecieron en invernadero hasta la evaluación, es decir, hasta que cumplieron con su ciclo fenológico y estuvieron en la etapa F8 (llenado de vaina y cosecha en verde) (González et al., 2004; Awale et al., 2008).

Objetivo específico 2:

Analizar y determinar los costos que varían para cada uno de los métodos de obtención y tratamientos en el estudio.

Método:

El análisis de los costos que varían o llamado también costos variables, se realizó teniendo en cuenta únicamente el precio para obtener cada uno de los tratamientos en estudio y aforado a un (1) litro.



3.6 DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES EVALUADAS:

Incidencia

Se contabilizó el número de plantas infectadas por el patógeno en relación al total de la población en estudio. Para ello, se empleó la fórmula:

$$I = \frac{\text{Plantas enfermas}}{\text{Total de plantas}} \times 100$$

Severidad

Es un parámetro que expresa la relación de la enfermedad con el daño que le provoca al cultivo. Se calculó contabilizando el número de órganos afectados por unidad experimental.

Número de hojas enfermas

Se contabilizó el número de hojas que presenten los síntomas visibles que causa el patógeno a la planta.

Número de vainas enfermas

Se contabilizó el número de vainas enfermas.

Número de granos enfermos

Se contabilizó los granos que presentaron los síntomas visibles de la enfermedad.

Rendimiento en peso del grano en verde.

Una vez cosechado el grano en verde, se obtuvo el rendimiento que tiene el cultivo, bajo la presencia de la enfermedad, tomando en cuenta los granos sanos de las dos variedades en estudio.

Días a la floración y a la cosecha.

Se siguió el proceso del ciclo del cultivo, contabilizando el número de días que transcurren desde la emergencia hasta la floración y la cosecha del grano en verde.



Para ello se tomaron datos cuando el 50% de las plantas estuvieron en la etapa de floración y cuando el 50% de las plantas presentaron vainas bien estructuradas y llenas.

Los días que transcurrieron desde la siembra hasta la floración para la variedad Bola canario y Rayado, fueron de 90 y 60 días respectivamente.

Para la variedad de fréjol bola canario (voluble), los días que pasaron desde la siembra a la cosecha fueron de 147 días y la variedad rayado (arbustiva) a los 90 días.



CAPITULO IV

4. RESULTADOS

A continuación, los resultados se presentan de acuerdo a las variables evaluadas y objetivos específicos planteados.

4.1 Resultados del primer objetivo específico.

La presencia de síntomas de antracnosis se observó a partir de los 15 días posteriores a la inoculación (DPI). Los mismos aparecieron inicialmente en el envés de las hojas con una tonalidad marrón rojizo, cuyo incremento se dio a lo largo de las hojas viejas a jóvenes y posteriormente a tallos.

Para evaluar el método de obtención, dosis y su eficiencia para prevenir *Colletotrichum lindemuthianum* (antracnosis) en fréjol, se obtuvieron los siguientes resultados.

4.1.1 Variable Incidencia

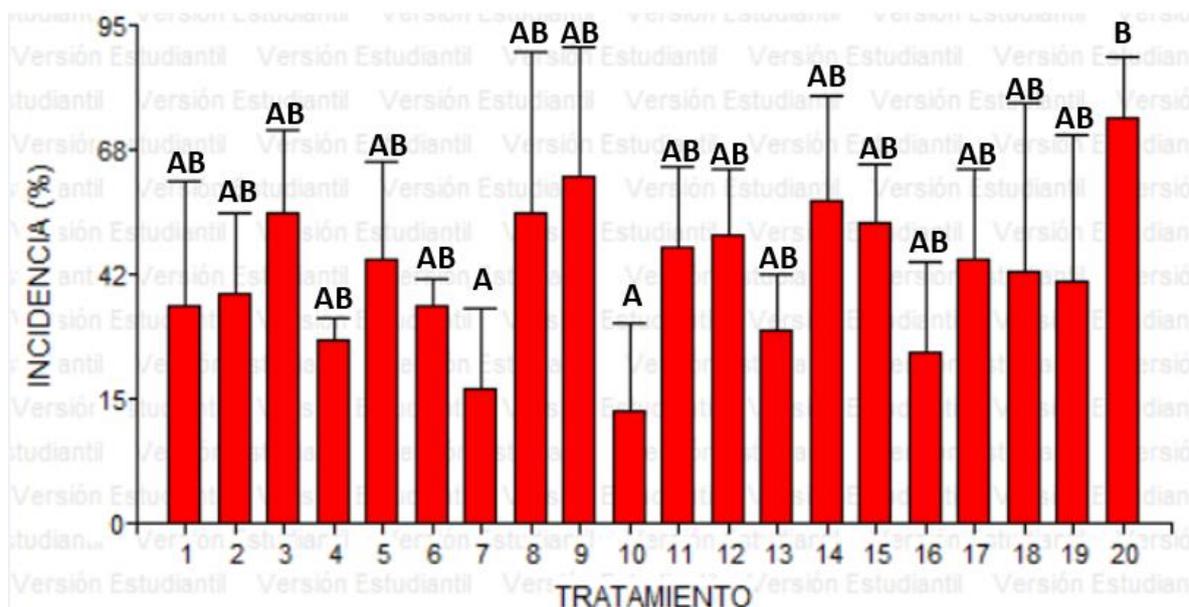
La variable “Incidencia”, presentó normalidad de los datos. El ADEVA que se presenta a continuación, indica que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos y bloques, con un valor de 0,0066 y 0,0490 respectivamente (Tabla 7).

Tabla 7 ADEVA de la variable "Incidencia".

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	215,58	22	9,80	2,42	0,0040
Tratamientos	181,74	19	9,57	2,36	0,0066
Bloques	33,84	3	11,28	2,78	0,0490
Error	230,91	57	4,05		
Total	446,49	79			

La incidencia máxima se presentó en el tratamiento testigo (T20), con una media del 75% de plantas infectadas, seguido del tratamiento químico (T19). Por el contrario, los tratamientos 10 y 7 con valores de 13 y 18 %, respectivamente fueron los que presentaron un menor porcentaje de incidencia, según la prueba de significancia de Tukey al 0,05% (Gráfico 2).

Gráfico 2 Diferencias entre tratamientos de la variable Incidencia.



4.1.2 Variable Severidad en hojas y tallos.

La variable “severidad” en hojas, presentó normalidad de los datos. En las tablas del ADEVA, descrito a continuación, indica que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos (Tabla 8).

Tabla 8 ADEVA de la variable "Severidad" en hojas.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,06	22	0,09	2,34	0,0052
Tratamientos	1,76	19	0,09	2,33	0,0074
Bloques	0,29	3	0,10	2,45	0,0727
Error	2,27	57	0,04		
Total	4,33	79			

El análisis de los resultados obtenidos en esta variable dejan ver una mayor severidad en las hojas en el tratamiento testigo (T20). Por el contrario, el tratamiento 10 tuvo un menor alcance de órganos afectados por el patógeno (Gráfico 3)

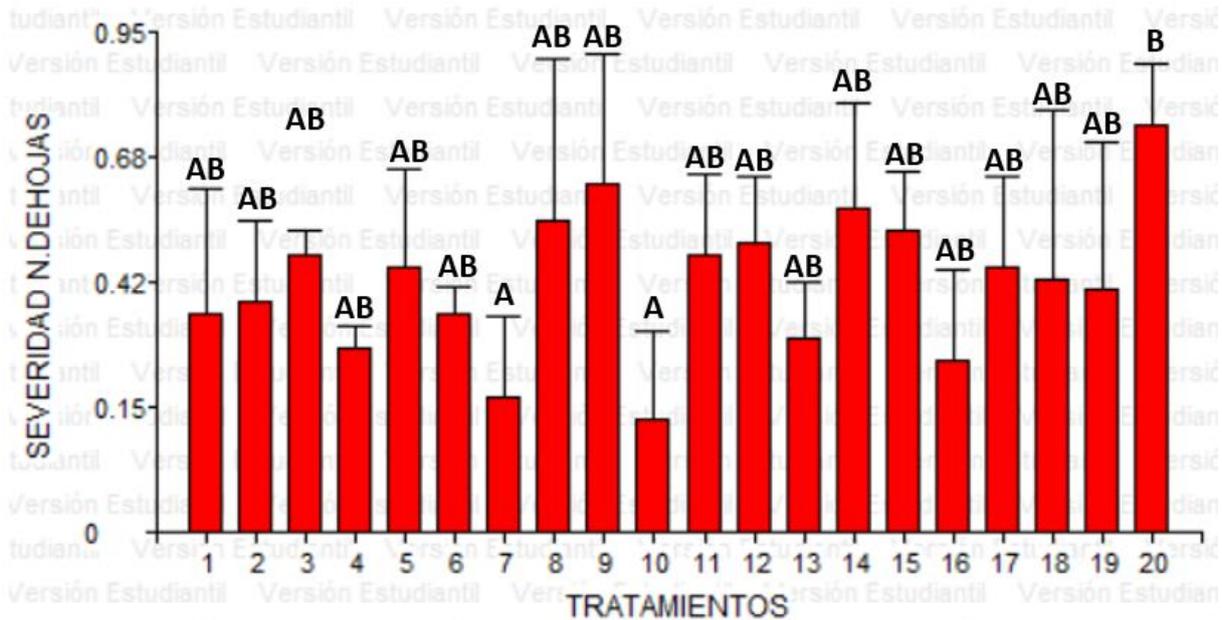


Gráfico 3 Diferencia entre tratamientos para la variable "Severidad" en hojas.

La variable "severidad" en tallos, presentó normalidad de los datos. El ADEVA presentado a continuación, indica que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos (Tabla 9).

Tabla 9 ADEVA de la variable "Severidad" en tallos.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,00	22	0,09	4,55	<0,0001
Tratamientos	1,97	19	0,10	5,18	<0,0001
Bloques	0,03	3	0,01	0,54	0,6572
Error	1,14	57	0,02		
Total	3,14	79			

El análisis de los resultados obtenidos en esta variable dejan ver una mayor severidad en los tallos en el tratamiento testigo (T20). Por el contrario, el tratamiento 10 que corresponde a la variedad INIAP 429 tuvo un menor alcance de órganos afectados por el patógeno (Gráfico 4).

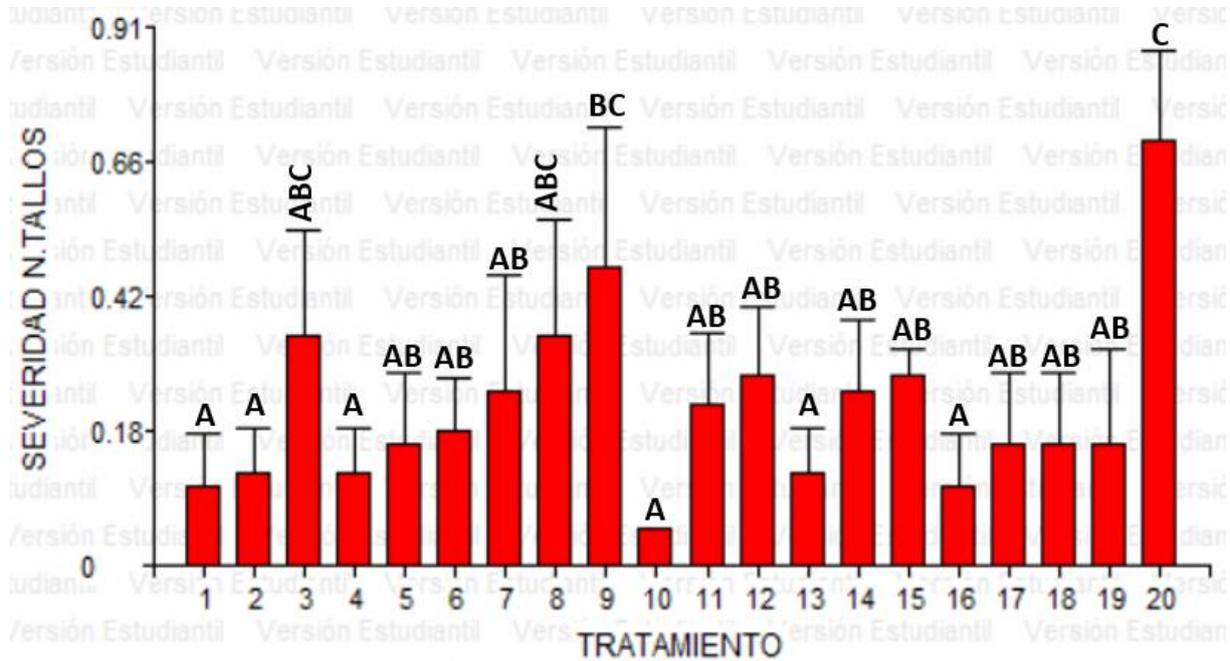


Gráfico 4 Diferencia entre tratamientos para la variable "Severidad en tallos".

4.1.3 Variable Número de hojas afectadas

La variable “número de hojas”, presentó normalidad de los datos. El ADEVA que se presenta a continuación, indica que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos (Tabla 10) .

Tabla 10 ADEVA de la variable "Número de hojas afectadas".

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	58468.88	22	2657.68	6.11	<0.0001
Bloques	4425.74	3	1475.25	3.39	0.024
Tratamientos	54043.14	19	2844.38	6.53	<0.0001
Error	24810.51	57	435.27		
Total	83279.39	79			

Se puede observar que el tratamiento T10 (maceración 50% en la variedad INIAP 429), fue el menos afectado, en tanto que el Testigo (T20) fue el de mayor afección en éste órgano de la planta.

Los valores de diferencias significativas, se pueden evidenciar en el siguiente gráfico (Gráfico 5).

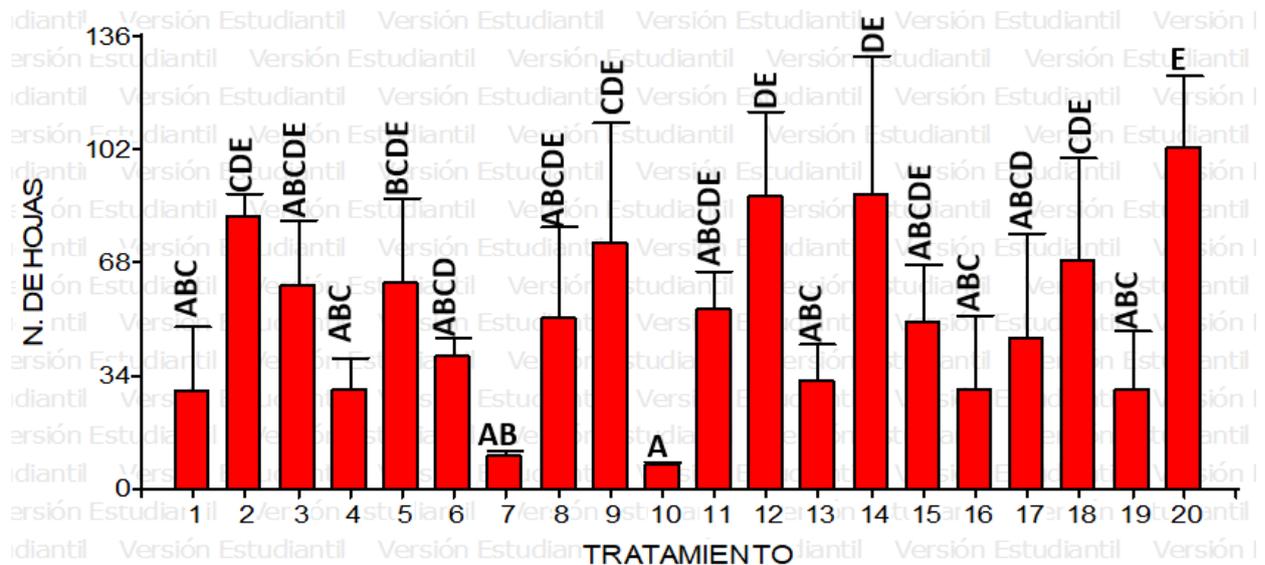


Gráfico 5 Diferencias entre tratamientos para la variable "Número de hojas".

4.1.4 Días a la floración y a la cosecha.

Para evaluar esta variable, se tomaron datos cuando el 50% de las plantas estuvieron en la etapa de floración y cuando el 50% de las plantas presentaron vainas bien estructuradas y llenas. Estos resultados están ligados a los ciclos de producción de cada variedad, siendo la variedad INIAP 429 de un ciclo de producción hasta cosecha en verde, temprano (90 días), tanto que, el ciclo de la variedad INIAP 426 es tardío (147 días).

Ver (Gráfico 6 y 7)

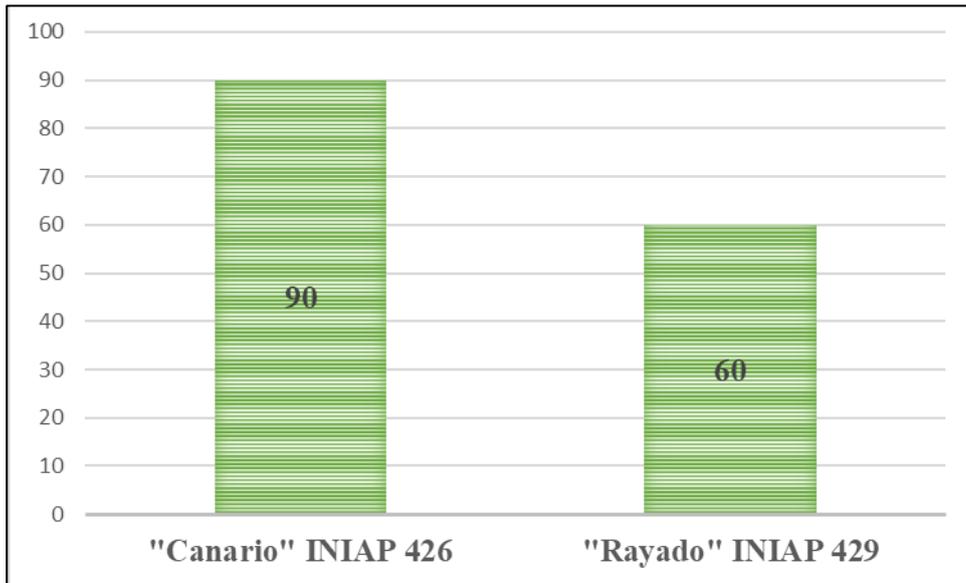


Gráfico 6 Días transcurridos desde la emergencia hasta la floración para ambas variedades en estudio.

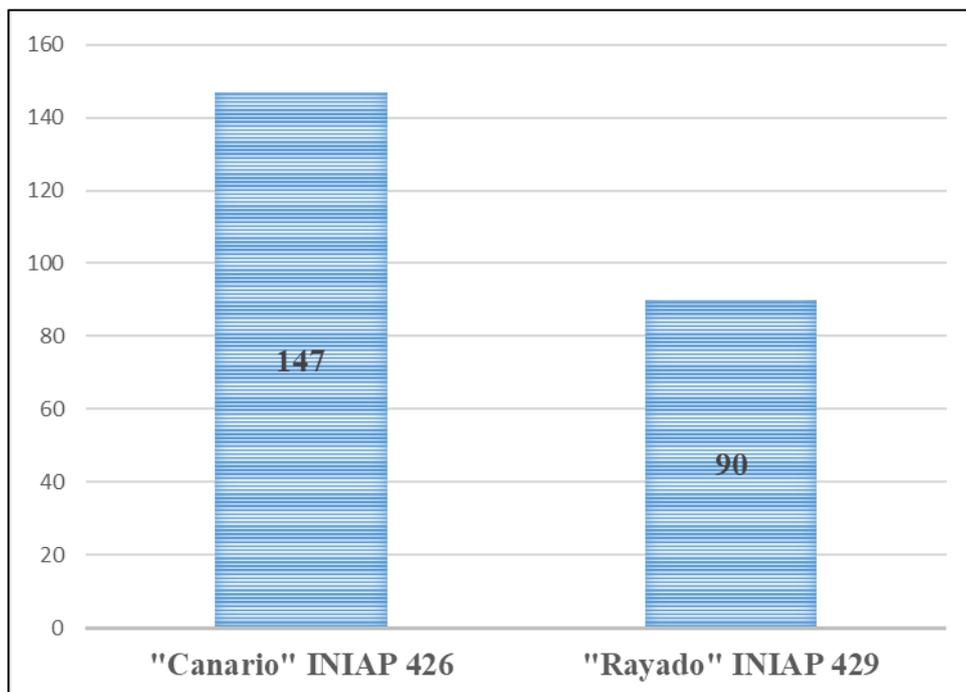


Gráfico 7 Días transcurridos desde la emergencia de las plántulas, hasta la cosecha en vaina verde de ambas variedades.



4.1.5 Variable Rendimiento

La variable “rendimiento (gramos)” en base al peso de 100 granos, presentó normalidad de los datos. El ADEVA que se presenta a continuación, indica que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos (Tabla 11).

Tabla 11 ADEVA de la variable "Rendimiento".

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4,32	22	0,20	2,45	0,0035
Tratamientos	3,62	19	0,19	2,37	0,0063
Bloques	0,70	3	0,23	2,92	0,0415
Error	4,57	57	0,08		
Total	8,89	79			

Los resultados obtenidos en la variable rendimiento dejan ver que el Tratamiento T10 (INIAP 429) es el que presenta un mejor valor en gramos/ tratamiento, en tanto que el T3 (INIAP 426) y T20 (ambas variedades) son los de menor rendimiento alcanzado. La diferencia entre los distintos tratamientos se puede apreciar en el (Gráfico 8).

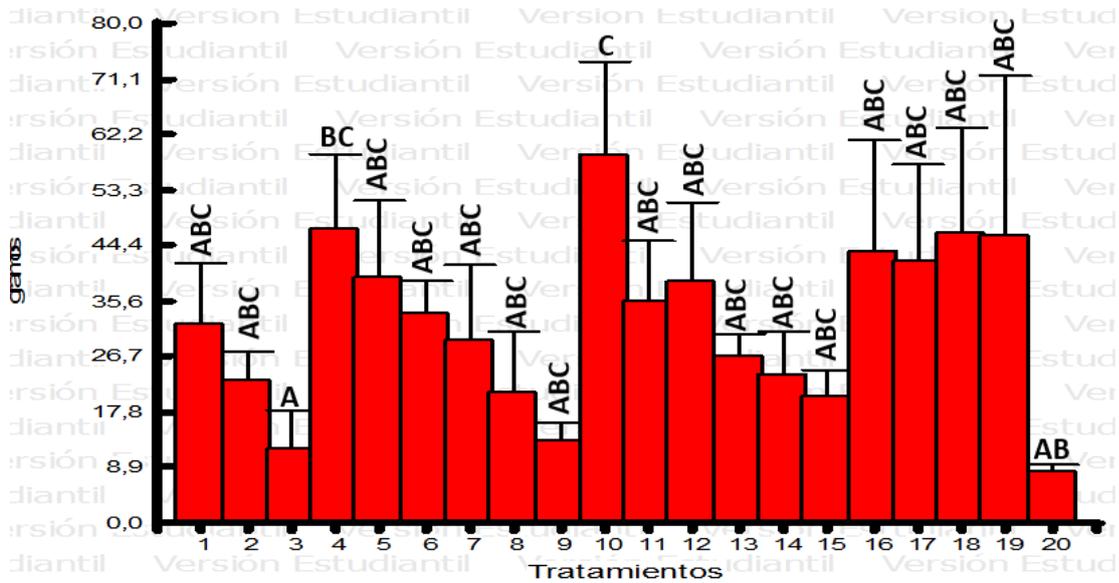


Gráfico 8: Diferencias entre tratamientos para la variable "Rendimiento".

4.2 Resultados del segundo objetivo específico.

Para cumplir con el segundo objetivo específico, “analizar y determinar los costos que varían para cada uno de los métodos de obtención y tratamientos en el estudio”, se efectuó la tabla de costos para cada tratamiento en estudio y se comparó con un valor establecido para efectividad (Tabla 13). Se puede apreciar en la tabla (Tabla 12) a continuación la especificación para los costos de producción de un (1) litro de extracto..

Tabla 12 Especificación de los costos para un (1) litro de extracto por tratamiento.

TRATAMIENTOS	COSTO DE PRODUCCIÓN
T1	6,87 \$USD
T2	6,77 \$USD
T3	6,67 \$USD
T4	6,87 \$USD
T5	6,77 \$USD
T6	6,67 \$USD
T7	6,98 \$USD
T8	6,77 \$USD
T9	6,67 \$USD
T10	6,98 \$USD



T11	6,77 \$USD
T12	6,67 \$USD
T13	7,08 \$USD
T14	6,77 \$USD
T15	6,67 \$USD
T16	7,08 \$USD
T17	6,77 \$USD
T18	6,67 \$USD
T19	6,64 \$USD
T20	0,00 \$USD

Se estableció una valoración para el parámetro de efectividad, lo mencionado se presenta en la tabla a continuación:

Tabla 13 Valoración para el parámetro de efectividad.

VALOR	DESCRIPCIÓN	PORCENTAJE %
6	Excelente	76-100
5	Notable	61-75
4	Satisfactorio	46-60
3	Regular	31-45
2	Marginal	16-30
1	Insatisfactorio	0-15

Fuente Andrade & Canales 2021.

Analizando los valores obtenidos, a continuación, se presenta un gráfico explicativo de la relación costo-efectividad, que varía de acuerdo a los diferentes tratamientos de los métodos de obtención de los extractos. Para tomar los valores de efectividad, se ha basado en los porcentajes de rendimiento para cada tratamiento, siendo el tratamiento (T10), el que alcanzó un mayor porcentaje de efectividad en base al rendimiento alcanzado, por ende, el que resultó mas efectivo, se puede apreciar en la tabla a continuación (Tabla 14):



Tabla 14 Porcentaje de efectividad en base al rendimiento alcanzado por las plantas en cada tratamiento.

TRATAMIENTOS	RENDIMIENTO (g)	PORCENTAJE DE EFECTIVIDAD	VALORACIÓN
T1	32.0	54.08%	4
T2	22.9	38.61%	3
T3	11.8	19.94%	2
T4	47.2	79.68%	5
T5	39.5	66.67%	5
T6	33.5	56.65%	4
T7	29.5	49.77%	4
T8	21.0	35.53%	3
T9	13.2	22.22%	2
T10	59.2	100.00%	6
T11	35.5	59.95%	4
T12	38.8	65.48%	5
T13	26.8	45.33%	4
T14	23.9	40.30%	3
T15	20.4	34.47%	3
T16	43.6	73.72%	5
T17	41.8	70.68%	5
T18	46.4	78.33%	5
T19	46.2	77.99%	6
T20	8.5	14.32%	1

El ADEVA (Tabla 15) realizado para el análisis de costos variables, no muestra diferencias significativas, sin embargo, mediante el siguiente gráfico (Gráfico 9) se puede observar que, si existen diferencias numéricas entre los diferentes tratamientos, frente a la efectividad de los mismos.

Tabla 15 ADEVA de los costos variables.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	80.5	7	11.5	11.5	0.0823
COSTO	80.5	7	11.5	11.5	0.0823
Error	2	2	1		
Total	82.5	9			

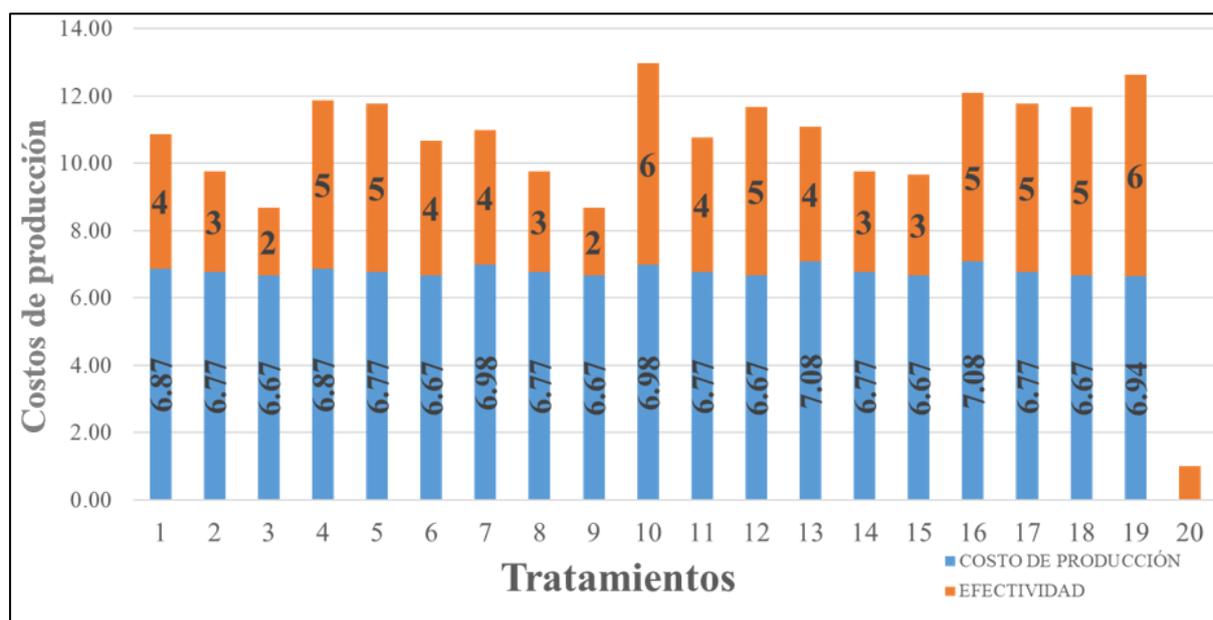


Gráfico 9 Relación "Costo-efectividad"

En el gráfico presentado se puede evidenciar los valores correspondientes a cada tratamiento, en donde, el tratamiento 10 (INIAP 429) tiene una efectividad de “6” (“Excelente”: 76-100%), con un costo de 6,98 \$USD, al igual que el químico, con una



efectividad de “6” y un costo de 6,94 \$USD. Con lo expuesto, el tratamiento químico es tan efectivo como el tratamiento 10, “maceración 50% en la variedad INIAP 429 (V2)”, Sin embargo, se busca una alternativa para la prevención química de esta enfermedad en estudio.

CAPITULO V

DISCUSIÓN



Según los resultados obtenidos, en la variable “Incidencia”, reflejan que los tratamientos con contenido etanólico, son los que presentaron una mayor protección ante *C. lindemuthianum*. Resultados que se corrobora con un estudio realizado por Reyes (2014), en el cual se menciona que uno de los extractos que mejor ha resultado como tratamiento en su investigación (Efecto de los extractos naturales en el crecimiento micelial de *Trichoderma*), es el obtenido de la Ruda (*Ruta graveolens*) siendo el más eficaz de entre los diferentes tratamientos.

Según Naveda (2010), la actividad antimicrobiana de un extracto de ruda diluida en un solvente etanólico es mayor que la de un extracto diluido en un medio acuoso; estudio que corrobora los resultados presentados, en donde, se observa que los extractos en base a la infusión y decocción son los que mayor incidencia presentaron después del tratamiento testigo absoluto. Según López (2006), los extractos acuosos de ruda no presentaron diferencias significativas en el crecimiento radial de conidias; sin embargo, los extractos etanólicos inhibieron más el crecimiento de *C. musae* y *B. cinerea* que los fungicidas químicos y testigos absolutos.

En cuanto a la variable “severidad” se presentó con mayor agresividad en el tratamiento testigo absoluto; en tanto que en, el tratamiento (T10) de maceración al 50% en la variedad INIAP 429 tuvo un menor alcance en los órganos afectados por el patógeno, es decir que, hubo la presencia de síntomas de *C. lindemuthianum* en hojas y tallos, pero no tuvo mayor alcance en vainas y semillas.

Debido a que la mayor severidad de la enfermedad, se manifiesta en la floración y formación del fruto, se considera que existen reducciones significativas en el rendimiento, cuando la enfermedad se presenta en el cultivo (Venegas, J., 2002), mención que refleja los resultados obtenidos, en donde el tratamiento (T3) de extracto en base a la decocción, variedad INIAP 426, tuvo un menor rendimiento; sin embargo el tratamiento de maceración al 50% (“T10” INIAP 429) fue el que mayor rendimiento alcanzó, seguido del tratamiento químico en ambas variedades.

Por lo tanto, el control alternativo de enfermedades mediante el uso de extractos de plantas, es una práctica muy conocida y utilizada en campo, bajo ciertos parámetros, basándose esencialmente en la reducción de la cantidad del inóculo o en la actividad patogénica (Celis, 2007).



Los extractos de alcohol y agua de *Piper nigrum*, *Ocimum sanctum* y *Citrus limon* fueron efectivos contra *Colletotrichum lindemuthianum* en cultivos y experimentos de campo al verificar la incidencia y propagación de la enfermedad (Amadioha, 2003).

En la investigación realizada por Andrade, Souza y Oliveira (2010), demuestra que, en condiciones de invernadero, los extractos de *M. argyrophylla* y *O. vulgare* provocaron las mayores reducciones (41,82% y 37,65%, respectivamente) en la gravedad de la enfermedad cuando se llevó a cabo un ensayo de efecto local. Consecuentemente, se deben realizar estudios futuros con especies de plantas que aporten propiedades antifúngicas para desarrollar nuevos productos para la prevención de la antracnosis del fréjol.

García, et al., (2021), mencionan que el extracto metanólico de *P. icosandra* mostró la mayor efectividad biológica in vitro contra el hongo *C. gloeosporioides*. Por lo tanto, fue el único que se evaluó durante el periodo de floración y en postcosecha. La efectividad del extracto metanólico en la etapa de floración fue 60-70%, donde las flores mostraron necrosis y pudrición y 71.4% en el control de antracnosis en los frutos postcosecha. Estos resultados son semejantes a los obtenidos en el presente estudio, en donde se evidenció que los extractos en base a la maceración, fueron los tratamientos que mayor respuesta dieron en cuanto a la prevención de *C. lindemuthianum* en fréjol.

Los resultados de la variable días a la floración (DAF) indican que la variedad INIAP 426 tuvo una duración de días transcurridos desde la siembra hasta la floración de 90 días, mientras que la variedad INIAP 429, 60 días transcurridos desde la siembra hasta la floración.

Lo indicado concuerda con la mención de Cevallos (2007), en donde nos dice que la diferencia en los DAF demostrada en los diferentes genotipos, está directamente afectada por el hábito de crecimiento; las variedades de hábito II (volubles), emiten guías lo cual provoca un prolongamiento de su periodo de floración. Mientras que las variedades de hábito I (arbustivas) no emiten guías, acortando así el periodo de floración. De manera que las variedades que menos días transcurren hasta la floración, también tienen el mismo comportamiento para la variable “días a la cosecha”, que en este caso correspondieron a 147 y 90 días para la variedad INIAP 426 e INIAP 429 respectivamente.

Guevara, et al., (2003) mencionan que *C. lindemuthianum*, provoca pérdida de peso de los granos, disminución en la firmeza de la vaina y mayor variación de color, lo cual se confirma con los resultados de rendimiento alcanzados en esta tesis, ya que se pudo observar que evidentemente, hubo una reducción del peso y rendimiento del grano por la presencia de



la enfermedad en el cultivo, teniendo una producción relativamente baja, ya que según el INIAP (2014), el peso de 100 granos tiernos de INIAP 426 es de 100 a 110 g, en tanto que el rendimiento alcanzado en esta investigación es de 59,2 g en el tratamiento que mejor peso alcanzó. Por otro lado; el óptimo rendimiento alcanzado para la variedad INIAP 429 según INIAP (2014) es de 85 a 100 g, frente a un peso de 54,08 g, de la variedad mencionada, alcanzados en esta investigación.

Aun sin existir estudios similares realizados sobre la actividad de la ruda en la prevención de *C. lindemuthianum* en fréjol, los resultados del presente estudio, indican que los posibles responsables del efecto antifúngico del extracto puede deberse a la presencia de los metabolitos secundarios existentes en la planta tales como: alcaloides, flavonoides, aceites esenciales y cumarinas, se menciona también en un estudio realizado por Reyes et al., (2014), ya que conocido que los metabolitos secundarios de las plantas juegan un papel importante en la protección de ataques de patógenos de diversas especies.

Además, el efecto antimicótico sobre el crecimiento de *C. lindemuthianum* puede ser atribuido a la presencia de compuestos fenólicos en los extractos en base a la maceración usados en la investigación, lo cual ratifica Obasa et al., (2007).

Estos resultados inhibitorios pueden deberse a compuestos con propiedades antifúngicas provenientes de la planta *R. graveolens*, que tienen el efecto de inhibir la germinación y la velocidad de crecimiento de conidias de ciertos hongos patógenos (Oliva et al., 2003; Hale et al., 2004).

En cuanto a la evaluación de los costos que varían para cada tratamiento, de acuerdo a los resultados obtenidos, se puede comparar entre el tratamiento T10 (maceración al 50%, var. INIAP 429) y el T19 (Oxicloruro de cobre 50 PM), ambos con una efectividad valorada en “6” (Excelente: 76- 100%), sin embargo; los costos varían entre 6,98 \$USD y 6,94 \$USD para los dos tratamientos mencionados respectivamente, lo cual indica que el tratamiento químico fue 0,4 ctvs. más económico que la maceración al 50%, no obstante; en los resultados de las demás variables evaluadas, se pudo evidenciar que el “T19” no fue tan efectivo como el “T10”, además de que, con la presente investigación se busca una alternativa de prevención de *C. lindemuthianum* en base a métodos de obtención de extractos naturales, pudiendo afirmar que la prevención en base a la maceración al 50% en la variedad INIAP 429 en condiciones de invernadero, resultó efectiva frente a la presencia del patógeno.



CAPITULO VI

CONCLUSIONES



- Según los resultados obtenidos, el extracto de ruda del tratamiento 10 (INIAP 429), resulta ser una opción de gran potencial para la prevención de *C. lindemuthianum* en *Phaseolus vulgaris* en cultivo bajo invernadero, ya que los resultados indican que *R. graveolens* si tiene un efecto inhibitorio en el crecimiento y esparcimiento de la enfermedad.
- Se pudo comprobar que el extracto acuoso de ruda si actuó sobre el crecimiento, desarrollo y diseminación de *C. lindemuthianum* en el cultivo de fréjol, lo cual se pudo observar tanto a nivel de la incidencia y severidad del patógeno en estudio; sin embargo, el proceso del extracto etanólico en la variedad INIAP 429, resultando tan efectivo como el tratamiento preventivo, Oxiclورو de cobre 50 PM.
- Debido al tiempo de exposición de ambas variedades a la enfermedad, se evidenció que la variedad que mayor incidencia y severidad presentó, fue la INIAP 426, frente a la INIAP 429 que tuvo menor presencia de síntomas visibles y menor daño, por ende alcanzó mayor rendimiento.
- El rendimiento fue directamente afectado por la agresividad de la enfermedad y su expansión en el cultivo bajo invernadero, comprobando que los tratamientos de maceración al 50% en ambas variedades evaluadas, resultó ser el mejor y por lo tanto, tuvieron un mayor rendimiento (g) tanto así que, la variedad INIAP 429 tuvo mayor rendimiento que la variedad INIAP 426.
- En cuanto a los costos variables, el tratamiento 10 (INIAP 429) y tratamiento químico, tienen una excelente efectividad, con un costo de 6,98 \$USD y 6,94 \$USD respectivamente.



RECOMENDACIONES

- ✓ Se recomienda que deben continuar los estudios en esta área. Estos resultados indican que el extracto de ruda representa una alternativa potencial para el manejo de *C. lindemuthianum*, por lo tanto, es necesario que se investigue más en otras variedades y en diferentes condiciones ambientales.
- ✓ Estudiar los compuestos químicos de la ruda que posiblemente están actuando como antifúngicos.
- ✓ Evaluar diferentes métodos artesanales que permitan optimizar la acción antifúngica de la ruda para su uso a nivel de pequeños y medianos productores.
- ✓ Realizar estudios con diferentes dosis de los “extractos” de ruda.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS



- Adekambi, S., Adegbola, P.; Arouna, A. (2010). Farmers' perception and agricultural technology adoption. The case of botanical extracts and bio-pesticides in vegetable production in Benin. *Contributed paper presented at the joint 3rd African Association of Agricultural Economists (AAAE) and 48th Agricultural Economists Association of South Africa (AEASA) conference*, Ciudad del Cabo, Sudáfrica.
- Aguilar, P., Navarro, A., Sánchez, A., Sánchez, M., & Ávila, R. (2013). Efecto antifúngico de extractos de plantas originarias del estado de Puebla sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. *Redalyc*, 6-11.
- Amadioha, A. (2003). Evaluation of some Plant Leaf Extracts against *Colletotrichum lindemuthianum* in Cowpea. *Acta*, 259-265.
- Andrade, J., Souza, E., & Oliveira, D. (2010). Use of plant extracts in the control of common bean anthracnose. *ELSEVIER*, 838-842.
- Ávalos, A. y Carril, P. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*. 2(3), 119-145.
- Awale, H., Falconí, J., Villatoro, M., y Kelly, J. (2008). Caracterización de aislamientos de *Colletotrichum lindemuthianum* de Ecuador y Guatemala para identificar genes de resistencia. *Agron. Mesoam*, 19 (1), doi:<https://doi.org/10.15517/am.v19i1.5016>.
- Bautista, S., Hernández, M., y Bosquez, E. (2003). Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. *Crop Protection*. 22, 1087-1092.
- Bettiol, W., Rivera, C., Mondino, P., Montealegre, R. y Colmenarez, Y. (2014). *Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe*. Facultad de Agronomía Universidad de la República, Montevideo. 404 p.
- Briceño, G., García, A. y Rosales, L. (2011). Effect of ethanolic extracts of rue and neem on the control of phytopathogenic bacteria of the genus *Erwinia*. *Agronomía Tropical* 61(2), 141-148.
- Celis, Á., Mendoza, C., Pachón, M., Cardona, J., Delgado, W., y Cuca, L. (2007, Octubre 29). *Scielo*. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/agc/v26n1/v26n1a12.pdf>



- Céspedes, C., Salazar, J., Ariza, A., Yamaguchi, L., Ávila, J. y Aqueveque, P. (2014). Biopesticide from plants: *Calceolaria integrifolia* s.l. *Environmental Research*. 132, 391-406.
- Cevallos, D. (2007). "Evaluación de la adaptabilidad de 20 variedades y líneas de fréjol arbustivo (*Phaseolus vulgaris* L.) de grano rojo y amarillo en el valle de Intag, Imbabura. 2007." I, 1. <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2508/1/T-ESPE-IASA-II-002028.pdf>
- CIAT. (1987). *Sistema Estándar para la Evaluación de Germoplasma de Frijol* (Vol. 66). Obtenido de https://books.google.com.co/books?id=mpgIE_jDedMC&printsec=frontcover&source=gs_atb#v=onepage&q&f=false
- Cubides, A. y Gonzalez, E., (2002). *Farmacognosia*. Editorial UNAD, Bogotá, Colombia. 7 (15), 185-192.
- Endara, L., Soria, S., y Pozo, F., (2008). *Medicina tradicional Andina y plantas curativas, herbolario de plantas curativas y medicinales. MSP, Programa de apoyo al sector de la salud en el Ecuador*. Quito, Ecuador. 20, 362-365.
- Erazo, F. (2005). *Evaluación de once variedades de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.) durante la época seca del año 2004 en la zona de Quevedo*. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Los Ríos, Ecuador. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. 57 p
- FAO. (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). (2005). *World crop and livestock statistics 1948-85. La Red de Información sobre Operaciones en Poscosecha (INPhO)*. Obtenido de: <http://www.fao.org/ag/agl/rla128/iiiap2/capituloiii.com>
- Fenalce. (2010). El cultivo del frijol. Recuperado el 26 de mayo de 2020. Obtenido de http://bdigital.unal.edu.co/70190/1/Tesis_Ninibeth_Sarmiento.pdf
- Ferreira, J., Campa, E. Pérez, C y Giraes, R. (2008). Reaction of a bean germplasm collection against five races of *Colletotrichum lindemuthianum* identified in northern Spain and implications for breeding. *Plant Dis*. 92, 705-708. doi:10.1094/PDIS-92-5-0705.



- García, M., Acosta, M., Rodríguez, E., Vásquez, J., & Hernández, L. (2021). *Scielo*.
Obtenido de <http://www.scielo.org.mx/pdf/polib/n51/1405-2768-polib-51-213.pdf>
- Garver, E., Falconí, E. y Peralta, J. (2008). *Encuesta a productores para orientar el fitomejoramiento de frijol en Ecuador*. Universidad de Costa Rica. Costa Rica. *Agronomía Mesoamericana*, 19(1), 7-18.
- Gakuya, W.; Itoga, M.; Mbaria, M.; Muthee, K. y Musau, K. (2013). Ethnobotanical survey of biopesticides and other medicinal plants traditionally used in Meru central district of Kenya. *Journal of Ethnopharmacology*. 145(2): 547-553.
- Guevara, P., Mejía, E., León, T., Romero, I., y Alonso, J. (2003). *Redalyc*. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/612/612222206.pdf>
- González, G. y Zandate, R., (2006). Adopción de variedades de frijol en el noroeste de zacatecas. *Terra Latinoamericana* 24(1), 141-147.
- González, M., Rodríguez, F., Hernández, J., Acosta, O., y Simpson, J. (2004). Analysis of pathotypes of *Colletotrichum lindemuthianum* found in the Central Region of Mexico and resistance in elite germplasm of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Dis.* 88, 152-156. doi:10.1094/PDIS.2004.88.2.152.
- Hale, L., Meepagala, M., Oliva, A., Aliotta, G. y Duke, O. (2004). Phytotoxins from the leaves of *Ruta graveolens*. *J. Agric. Food Chem.* 52:3345-3349.
- Hernández, Vargas, Muruaga, y Mayek. (2013). Origin, domestication and diversification of common beans. advances and perspectives. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 2(36), 95-104.
- INEC. (2002). III Censo Nacional Agropecuario. *Resultados nacionales y provinciales*, 66-72. Quito, Pichincha, Ecuador: EC.
- INIAP. (2000). INIAP 421 Bolívar Variedad mejorada de frejol voluble. *Revista informativa del Instituto Nacional autónomo de Investigaciones Agropecuarias*, 14 (26).
- Koul, O., Walia, S. y Dhaliwal, G. (2008). Essential oils as green pesticides: Potential and constraints. *Biopesticides International*. 4(1), 63-84.
- Kuklinski, K (2003). *Farmacognosia*. Editorial OMEGA S.A., Barcelona, España, 32- 39.



- López, A., Vélez, M., y Gallo, I. (2006). *Evaluación de extractos vegetales para manejo de hongos patógenos en banano y fresa almacenados*, 55(3), 39–44.
- MAGAP. (2014) Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. *Boletín situacional fréjol tierno y seco*. Obtenido de:
<http://Sinagap.Agricultura.Gob.Ec/Phocadownloadpap/Cultivo/2014/Hboletin-Situacional-Frejol-2014-Actualizado.Pdf>
- Mesa, A., Zapata, S., Arana, L., Zapata, C., Monzalve, Z. y Rojano, B. (2015). *Antioxidant activity of different polarity extracts from Ageratum conyzoides L.* Boletín latinoamericano del caribe de plantas medicinales y aromáticas, 14(1), 1-10.
- Missouri Botanical Garden (2009). *Ruta graveolens* L. Obtenido de
<http://www.tropicos.org/NameSpecimens.aspx?naimed=28100014&langid=6,6>
- Murillo, Á., Peralta, E., Mazón, N., y Pinzón, Z. (2004). *Varietal mejorada de fréjol arbustivo para consumo en grano tierno*. Quito, Ecuador. Obtenido de:
<https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/2610/1/iniapscpl252.pdf>
- Murillo, Á., Peralta, E., Mazón, N., Rodríguez, D. y Pinzón, J. (2014). *Catálogo de variedades mejoradas de fréjol arbustivo (Phaseolus vulgaris L.) para los valles y estribaciones de la sierra ecuatoriana*. Quito, Ecuador. Obtenido de:
<https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/2712/1/iniapscpm146.pdf>.
- Naveda, G. (2010). *Establecimiento de un proceso de obtención de extracto de ruda (Ruta graveolens), con alto contenido de polifenoles*. Obtenido de
<https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/2295/1/CD-3036.pdf>
- Obasa, C., Adeoti, A., Enikuomihin, A. y Bodunde, G. (2007). Efficacy of Bee-propolis in the control of *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. And Magn.) Briosi and Cav In vitro. *Res J of Microbiol.* 2 (2): 175-179.
- Oliva, A., Meepagala, M., Wedge, E., Harries, D., Hale, L., Aliotta, G. y Duke, O. (2003). Natural Fungicides from *Ruta graveolens* L. leaves, including a new quinolone alkaloid. *J. Agric. Food Chem.* 51:890-896
- Peralta, M. M. (2013). *Manual agrícola de fréjol y otras leguminosas*. Quito



- Pérez, L., Saquero, M., y Beltrán, J. (2003). Caracterización morfológica y patogénica de *Colletotrichum* sp. como agente causal de la antracnosis en ñame *Dioscorea* sp. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 1, 24-35. ISSN: 0123-3475. Obtenido de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=776/77650104>.
- Pérez, T. (2009). *Obtención de Extractos a partir de Plantas Medicinales*. Obtenido de: <http://www.monografias.com/trabajos66/extractos-plantas-medicinales/extractos-plantas-medicinales.shtml>
- Pernichi, C., (1998). *Estudio comparativo de las distintas especies de Ruda*. Obtenido de: <http://www.acfah.org/conferencias/carmen/1/ruta1.php>.
- Pickersgill, B. (1989). Cytological and Genetical Evidence on the Domestication and Diffusion of Crops with in the Americas. *Unwin Hyman* , 426-439.
- PROFRIZA. (Proyecto Regional de Fríjol para la Zona Andina). (2000). *Un cultivo ancestral avanza hacia la modernidad: tiempo de transición: 1988-1999*. Informe final de PROFRIZA/ Cali, Colombia: Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación. 72 p.
- PRONALEG-GA. (Programa Nacional de Leguminosas y Granos Andinos). (2005). Informe anual 2004: *Actividades en fréjol (Phaseolus vulgaris L.)*. Quito – Ecuador.
- Reyes, C., Quintanar, D., Morales, P., Sobal. M., Escudero, A., y Ávila, J. (2014). Efecto del extracto de ruda (*Ruta graveolens*) en el crecimiento micelial de *Trichoderma*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(8), 1433–1446.
- Rodríguez, D., Vega, L., Murillo, Á., Peralta, E., y Rosas, J. (2018). Variabilidad patogénica de *Colletotrichum lindemuthianum* y resistencia en germoplasma de *Phaseolus vulgaris L.* de Ecuador. *Agronomía Mesoamericana*, 29(1), 19-29. Obtenido de: <https://dx.doi.org/10.15517/ma.v29i1.27511>.
- Rojo, I., Álvarez, B., García, S., León, J., Sañudo, A., y Allende, R. (2017). Situación actual de *Colletotrichum* spp. En México: Taxonomía, caracterización, patogénesis y control. *Revista mexicana de fitopatología*, 35(3), 549-570. Obtenido de: <https://dx.doi.org/10.18781/r.mex.fit.1703-9>.



- Saavedra, L. (2009). *Instituto de Investigaciones Hortícolas*. Obtenido de:
http://www.utm.mx/edi_anteriores/Temas39/2NOTAS%2039-3.pdf.
- Sanjur, Piperno, y Wessel. (2002). *Phylogenetic relationships among domesticated and wild species of Cucurbita (Cucurbitaceae) inferred from a mitochondrial gene*, 535-540.
- Saravanakumar, D., Karthiba, L., Ramjegathesh, R., Prabakar, K., Raguchander, T. (2015). Characterization of bioactive compounds from botanicals for the management of plant diseases. *Sustainable Crop Disease Management Using Natural Products*.
- SICA-MAG. (2000). *SICA.GOV.EC*. Obtenido de: III CENSO NACIONAL AGROPECUARIO: http://www.sica.gov.ec/cadenas/frejol/docs/frej_esp.htm
- Singh, S. (1999). *Common Bean Improvement in the Twenty-First Century*. Netherlands: Publishers.
- Singh, D. (2014). *Advance in Plant Biopesticides*. Springer. 401 p.
- Sparks, T., Hahn, D., Garizi, N. (2017). Natural products, their derivatives, mimics and synthetic equivalents: role in agrochemical discovery. *Pest management science*, 73(4), 700-715.
- Torres, E., Quisphe, D., Sánchez, A., Reyes, M., González, B., Torres, A., Cedeño, A. y Haro, A., (2013). Caracterización De La Producción De Frijol En La Provincia De Cotopaxi Ecuador: Caso Comuna Panyatug. *Ciencia y Tecnología*, 6, 23–31. Obtenido de:
http://www.uteq.edu.ec/revistacyt/publico/archivos/C2_V6%20N1%204Caract%20produccion%20frijol,%20Comuna%20Panyatug.pdf
- UDELAR (Universidad de la República de Uruguay), (2001). *Preparación de Extractos vegetales*. Obtenido de
<http://mail.fq.edu.uy/~planta/pdf/FarmacognosiaPE80/PREPARACIONEXTRACTOS.pdf>.
- Vacas, O., Oña, P., y Quitiguiña, V., (2008) *Plantas útiles de Otonga y los bosques nublados noroccidentales del Ecuador*. Fundación Otonga. Quito, Ecuador. 270, 271.
- Valladares, C. (2010). *Taxonomía y Botánica de los Cultivos de Grano*. Obtenido de
<https://curlacavunah.files.wordpress.com/2010/04/unidad-ii-taxonomia-botanica-y-fisiologia-de-los-cultivos-de-grano-agosto-2010.pdf>



- Vanegas, K., Martínez, L., Salazar, M., Gutiérrez, P., y Marín, M. (2014). *Detección y cuantificación por qPCP de Colletotrichum lindemuthianum en tejidos y semillas de frijol en Antioquia, Colombia. Bioagro*, 26(1), 13-20. Obtenido de: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S131633612014000100002&lng=es&tlng=es.
- Vega, L. (2011). *Análisis de la resistencia de poblaciones locales de fréjol (Phaseolus vulgaris L.) de Cotacachi y Saraguro a antracnosis (Colletotrichum lindemuthianum) y roya (Uromyces appendiculatus)*. Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Velásquez, J., y Giraldo, P. (2005). *Posibilidades competitivas de productos prioritarias de Antioquia frente a los acuerdos de integración y nuevos acuerdos comerciales*. Antioquía : Departamento de Planificación- Secretaría de productividad y competitividad.
- Venegas, J. (2002). *Adaptación de técnicas y métodos para la caracterización patogénica de Colletotrichum lindemuthianum y Phaeoisariopsis griseola en frijol común (Phaseolus vulgaris L.)*
- Vig, P., Rampal, T. y Thind, S. (2009). Bio-protective effects of glucosinolates-A review. *Food Science and Technology* 42(10), 1561-1572.
- Zambrano, A. (2015). *Evaluación a nivel de laboratorio del efecto de 7 extractos vegetales para el control de Colletotrichum sp agente causal de la antracnosis en el cultivo de tomate de árbol*.
- Zizumbo, D., y Colunga, P. (2010). Origin of agriculture and plant domestication in West Mesoamerica. *Crop Evol*, 813-825.

**ANEXOS****Anexo 1 Prueba de significancia para la variable Incidencia.**

TRATAMIENTOS	MEDIAS	n	E.E.	RANGOS	
T10	0,13	4	0,10	A	
T7	0,18	4	0,10	A	
T16	0,25	4	0,10	A	B
T4	0,28	4	0,10	A	B
T13	0,30	4	0,10	A	B
T1	0,35	4	0,10	A	B
T6	0,35	4	0,10	A	B
T2	0,38	4	0,10	A	B
T19	0,40	4	0,10	A	B
T18	0,43	4	0,10	A	B
T5	0,45	4	0,10	A	B
T17	0,45	4	0,10	A	B
T11	0,48	4	0,10	A	B
T3	0,48	4	0,10	A	B
T12	0,50	4	0,10	A	B
T15	0,53	4	0,10	A	B
T8	0,55	4	0,10	A	B
T14	0,58	4	0,10	A	B
T9	0,63	4	0,10	A	B
T20	0,75	4	0,10		B

Anexo 2 Prueba de significancia de la variable severidad en hojas.*Error: 0,0399*

gl: 57

TRATAMIENTOS	MEDIAS	n	E.E.	RANGOS	
T10	0,13	4	0,10	A	
T7	0,18	4	0,10	A	
T16	0,25	4	0,10	A	B
T4	0,28	4	0,10	A	B
T13	0,30	4	0,10	A	B
T1	0,35	4	0,10	A	B
T6	0,35	4	0,10	A	B
T2	0,38	4	0,10	A	B
T19	0,40	4	0,10	A	B
T18	0,43	4	0,10	A	B
T5	0,45	4	0,10	A	B



T17	0,45	4	0,10	A	B
T11	0,48	4	0,10	A	B
T3	0,48	4	0,10	A	B
T12	0,50	4	0,10	A	B
T15	0,53	4	0,10	A	B
T8	0,55	4	0,10	A	B
T14	0,58	4	0,10	A	B
T9	0,63	4	0,10	A	B
T20	0,75	4	0,10		B

Anexo 3 Prueba de significancia de la variable Severidad en tallos.*Error: 0,0200**gl: 57*

TRATAMIENTOS	MEDIAS	n	E.E.	RANGOS		
T10	0,00	4	0,07	A		
T16	0,08	4	0,07	A		
T1	0,08	4	0,07	A		
T13	0,10	4	0,07	A		
T2	0,10	4	0,07	A		
T4	0,10	4	0,07	A		
T17	0,15	4	0,07	A	B	
T18	0,15	4	0,07	A	B	
T19	0,15	4	0,07	A	B	
T5	0,15	4	0,07	A	B	
T6	0,18	4	0,07	A	B	
T11	0,23	4	0,07	A	B	
T14	0,25	4	0,07	A	B	
T7	0,25	4	0,07	A	B	
T12	0,28	4	0,07	A	B	
T15	0,28	4	0,07	A	B	
T8	0,35	4	0,07	A	B	C
T3	0,35	4	0,07	A	B	C
T9	0,48	4	0,07		B	C
T20	0,70	4	0,07			C

Anexo 4 Prueba de significancia para la variable Numero de hojas afectadas.*Error: 435.2721**gl: 57*

TRATAMIENTO	MEDIAS	n	E.E.	RANGOS		
10	6.75	4	10.43	A		
7	9.5	4	10.43	A	B	
1	29.25	4	10.43	A	B	C



4	29.5	4	10.43	A	B	C		
16	29.5	4	10.43	A	B	C		
19	29.5	4	10.43	A	B	C		
13	32.25	4	10.43	A	B	C		
6	39.5	4	10.43	A	B	C	D	
17	45.25	4	10.43	A	B	C	D	
15	49.75	4	10.43	A	B	C	D	E
8	51	4	10.43	A	B	C	D	E
11	53.5	4	10.43	A	B	C	D	E
3	61	4	10.43	A	B	C	D	E
5	62	4	10.43		B	C	D	E
18	68.75	4	10.43			C	D	E
9	73.75	4	10.43			C	D	E
2	81.75	4	10.43			C	D	E
12	87.75	4	10.43				D	E
14	88.75	4	10.43				D	E
20	102.75	4	10.43					E

Anexo 5 Prueba de significancia para la variable Rendimiento.*Error: 0,0802 gl: 57*

TRATAMIENTOS	MEDIAS	n	E.E.	RANGOS		
3	0,90	4	0,14	A		
20	0,92	4	0,14	A	B	
9	1,09	4	0,14	A	B	C
8	1,20	4	0,14	A	B	C
15	1,29	4	0,14	A	B	C
2	1,33	4	0,14	A	B	C
14	1,33	4	0,14	A	B	C
7	1,36	4	0,14	A	B	C
13	1,42	4	0,14	A	B	C
1	1,45	4	0,14	A	B	C
19	1,49	4	0,14	A	B	C
11	1,49	4	0,14	A	B	C
16	1,49	4	0,14	A	B	C
12	1,51	4	0,14	A	B	C
6	1,51	4	0,14	A	B	C
17	1,52	4	0,14	A	B	C
5	1,52	4	0,14	A	B	C
18	1,55	4	0,14	A	B	C
4	1,64	4	0,14		B	C
10	1,73	4	0,14			C



Anexo 6: Memoria fotográfica.



Preparación del sustrato.



Siembra de ambas variedades.



Germinación INIAP 426



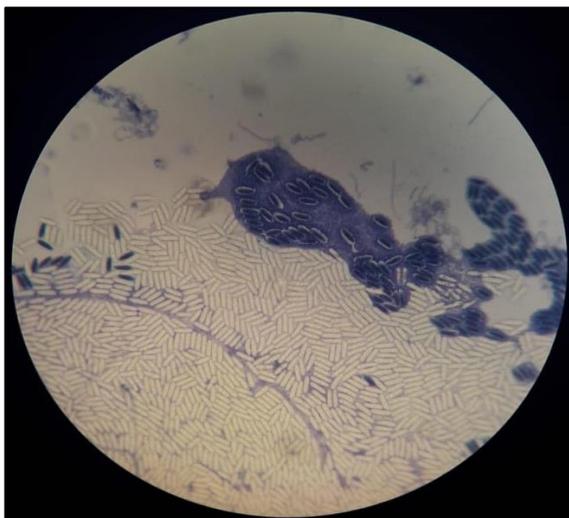
Germinación INIAP 429



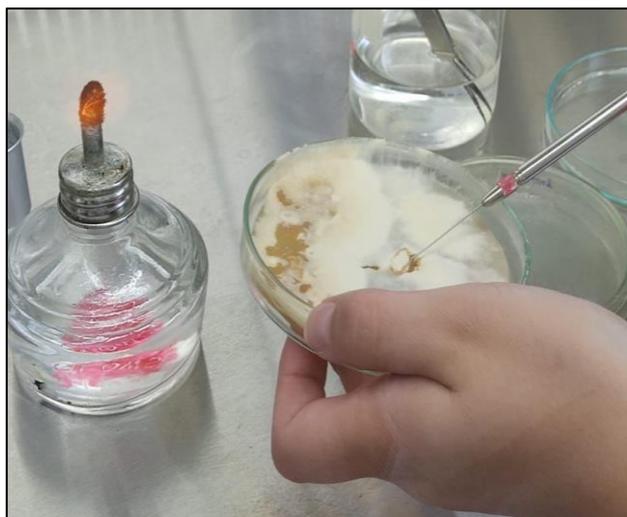
Inspección del crecimiento y riego de las plántulas.



Raleo de plántulas.



Aislamiento e identificación de *C. Lindemuthianum*



Siembra y replicación de la cepa de *C. Lindemuthianum*



Incremento del inóculo.



Proceso de secado para la infusión.



Preparación de la infusión.



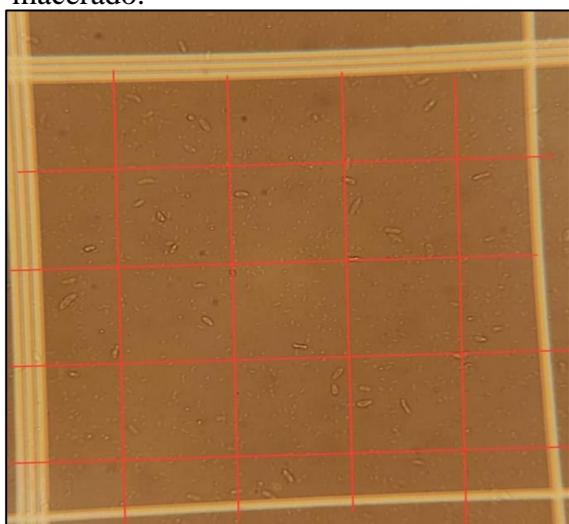
Preparación de la decocción.



Producto de la primera filtración del macerado.



Almacenamiento de los diferentes métodos de obtención del extracto.



Conteo y ajuste de esporas con la cámara de Neubauer.



Establecimiento de los tratamientos.



Aplicación de los tratamientos preventivos.



Inoculación del patógeno.



Aparición de los primeros síntomas visibles de la enfermedad.



Sistema de tutoreo de la variedad INIAP 426.



Cosecha variedad INIAP 429



Cosecha variedad INIAP 426.