

**CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL JUGO DE FIQUE (*Furcraea spp.*),
ELABORACIÓN Y EVALUACIÓN DE UN BIOFUNGICIDA ÚTIL EN EL
CONTROL AGROECOLÓGICO DE LA GOTA (*Phytophthora Infestans*) EN LA
PAPA.**

MYRIAM CARMENZA. ROJAS SALAS

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
SAN JUAN DE PASTO
2008**

**CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL JUGO DE FIQUE (*Furcraea spp.*),
ELABORACIÓN Y EVALUACIÓN DE UN BIOFUNGICIDA ÚTIL EN EL
CONTROL AGROECOLÓGICO DE LA GOTA (*Phytophthora Infestans*) EN LA
PAPA.**

MYRIAM CARMENZA. ROJAS SALAS

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Ingeniera Agroindustrial**

**Director:
MSc: ERNESTO LUQUE TURRIAGO**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
SAN JUAN DE PASTO
2008**

NOTA DE RESPONSABILIDAD

“Las ideas y conclusiones aportadas en e trabajo de grado son responsabilidad exclusiva de sus autores”

Artículo 1° del acuerdo N° 323 de Octubre 11 de 1966, emanada del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

NOTA DE ACEPTACION

Presidente del jurado

Ph.D: NELSON HURTADO

MSc. OSCAR ARANGO

San Juan de Pasto, Noviembre de 2008.

DEDICATORIA

A Dios por darme la oportunidad de vivir, a mi madre y familia por la oportunidad de estudiar y a todas las personas que me apoyaron en esta investigación.

MYRIAM CARMENZA. ROJAS SALAS

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Nariño, por permitirme el logro de este pregrado.

Agencia de Desarrollo local Pasto (ADL), al concurso Desarrollo Rural: Jóvenes Investigadores.... Jóvenes a Investigar, Fase II: Por la financiación otorgada para llevar a cabo la elaboración y evaluación del biofungicida.

VIPRI, por la financiación para llevar a cabo la caracterización fisicoquímica del jugo de fique.

Facultad de Ingeniería agroindustrial, por la asesoría y colaboración brindada.

Departamento de química, por la asesoría y colaboración brindada

Facultad de Agronomía, por asesoría especializada.

Productores de fibra de fique de la Vereda Capulí Grande en el municipio de El Tambo, por su valiosa colaboración en el proceso obtención de materia prima y de extracción del jugo de fique.

SENA, por el préstamo de ¼ Ha, en donde se llevó a cabo una primera evaluación del biofungicida.

Almacén Agroganadero, por colaboración con fertilizantes.

Sr. Guillermo Salas, por préstamo del segundo lote para la siembra del cultivo de papa en El Tambo Nariño.

Joven Luis Carlos Salas, por realizar todas las actividades correspondientes al desarrollo del cultivo y las aplicaciones del biofungicida.

Esp. Jairo Muñoz A, por asesoría especializada.

Tecnóloga Sandra Espinoza, por realizar los ensayos cualitativos de metabolitos secundarios.

David Arturo, Químico, Laboratorios especializados, por realizar la cuantificación de alcaloides en la muestra de jugo de fique mediante CG-FID y por asesoría.

Dr. Jair Gaviria, Jefe de laboratorios de análisis instrumental de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín por realizar la cuantificación de flavonoides de la muestra mediante HPLC y por la asesoría.

Ingenieros Agrónomos Álvaro Castillo y Carlos Acosta, por la asesoría especializada en la evaluación del biofungicida.

A todas las personas que participaron en el desarrollo de la investigación de manera directa e indirecta.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION.	20
1. IDENTIFICACION Y ESTADO ACTUAL DEL PROBLEMA.	21
2. JUSTIFICACION	23
3. OBJETIVOS	24
3.1 OBJETIVO GENERAL	24
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	24
4. MARCO REFERENCIAL	25
4.1 BIOCIDAS BOTÁNICOS.	25
4.2 PLANTAS CON ACTIVIDAD BIOCIDA.	25
4.3 METABOLITOS SECUNDARIOS.	26
4.3.1 Definición.	26
4.3.2 Alcaloides	26
4.3.3 Saponinas.	27
4.3.4 Taninos	29
4.3.5 Flavonoides	30
4.3.6 Esteroides.	31
4.4 FAMILIA AGAVÁCEA.	32
4.4.1 Generalidades del cultivo (<i>Furcraea</i> spp).	32
4.4.2 Clasificación taxonómica del fique	33
4.4.3 Variedades del cultivo explotadas en Colombia.	34
4.4 POTENCIAL BIOCIDA DE LA ESPECIE <i>Furcraea</i> Spp.	35
4.5 INVESTIGACIONES AFINES.	37
4.6 PATOSISTEMA <i>Phytophthora Infestans</i> / <i>Solanum Tuberosum</i> .	40
4.6.1 Origen de la papa cultivada (<i>Solanum Tuberosum</i>)	40
4.6.2 Origen del patógeno (<i>Phytophthora Infestans</i>).	40
4.6.3 Interacción del patógeno con plantas altamente susceptibles	41

	Pág.
4.6.4 Productos para el control de la enfermedad.	41
4.6.5 Variedades de la papa	41
5. DISEÑO METODOLOGICO	44
5.1 MATERIALES Y EQUIPOS.	44
5.1.1 Materiales	44
5.1.2 Equipos.	44
5.2 METODOLOGÍA.	45
5.2.1 Caracterización fisicoquímica del jugo de fique (<i>Furcraea spp.</i>):	45
5.2.2 Análisis fitoquímico preliminar.	45
5.2.3 Detección de Esteroides	47
5.2.4 Análisis cromatográfico	47
5.2.5 Estabilización del jugo	50
5.2.6 Elaboración del biofungicida a partir del jugo de fique	52
5.2.7 Evaluación del biofungicida en campo abierto	52
6. RESULTADOS	54
6.1 PROPIEDADES FÍSICAS DEL JUGO DE FIQUE.	54
6.1.1 Densidad relativa	54
6.1.2 pH.	54
6.1.3 Punto de ebullición	54
6.2 ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR.	55
6.3 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO.	56
6.3.1 Análisis de alcaloides mediante Cromatografía de Gases CG-FID	56
6.4 ESTABILIZACIÓN DEL JUGO DE FIQUE.	59
6.5 OBTENCIÓN DEL BIOFUNGICIDA A PARTIR DEL JUGO DE FIQUE.	62
6.6 EVALUACIÓN DEL BIOFUNGICIDA <i>in situ</i> .	63
7. DISCUSION	88
7.1 PROPIEDADES FÍSICAS DEL JUGO DE FIQUE.	88
7.2 ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR.	88

	Pág.
7.3 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO.	89
7.4 ESTABILIZACIÓN DEL JUGO DE FIQUE.	90
7.5 ELABORACIÓN DEL BIOFUNGICIDA.	90
7.6 EVALUACIÓN DEL BIOFUNGICIDA EN CAMPO ABIERTO.	91
8. ANALISIS DE COSTOS	92
8.1 COMPARACIÓN DE LOS COSTOS DE PRODUCCIÓN.	92
8.2 ESTIMACIÓN DE LA CANTIDAD DEL BIOFUNGICIDA QUE PODRÍA SER DEMANDADA EN EL DEPARTAMENTO DE NARIÑO.	94
CONCLUSIONES.	96
RECOMENDACIONES	97
BIBLIOGRAFIA	98

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Composición Química de la Hoja de Fique	37
Cuadro 2: Resultados de pruebas preliminares aplicadas al Agave Salmian.	38
Cuadro 3: Variedades de la papa y procedencia.	42
Cuadro 4: Características de la variedad Diacol Capiro	43
Cuadro 5: Características de la papa criolla o Yema de huevo	43
Cuadro 6: Método de cuantificación de flavonoides por HPLC aplicado.	50
Cuadro 7: Tratamientos aplicados en la evaluación in situ	53
Cuadro 8: Resultados de las pruebas cualitativas para metabolitos secundarios.	55
Cuadro 9: Resultados del análisis de alcaloides en Extracto de fique por CG.	56
Cuadro 10: Rf de sapogeninas crudas recristalizadas	57
Cuadro 11: Tiempos de retención de la quercetina.	57
Cuadro 12: Datos de reporte porcentual de áreas para estándar y muestra	58
Cuadro 13: Primeros resultados del seguimiento de vida útil del biofungicida.	60
Cuadro 14: Resultados del seguimiento de vida útil del biofungicida	61
Cuadro 15: Resultados de porcentajes de incidencia de la evaluación numero 5.	65
Cuadro 16: ANOVA para PORCENTAJE DE INCIDENCIA	65
Cuadro 17: Contraste de Rangos Múltiples para porcentaje de incidencia	66
Cuadro 18: Resultados de porcentajes de incidencia de la evaluación numero 6.	69
Cuadro 19: ANOVA para PORCENTAJE DE INCIDENCIA	69
Cuadro 20: Contraste de rangos múltiples para porcentaje de incidencia	70
Cuadro 21: Resultados de porcentajes de incidencia de la evaluación	71
Cuadro 22: ANOVA para PORCENTAJE DE INCIDENCIA	72
Cuadro 23: Contraste de rangos múltiples para porcentaje de incidencia	73
Cuadro 24: Resultados de porcentajes de incidencia de la evaluación numero 8.	74
Cuadro 25: ANOVA para PORCENTAJES DE INCIDENCIA	75
Cuadro 26: Contraste Múltiple de Rango para PORCENTAJE DE INCIDENCIA	75

Pág.

Cuadro 27: Resultados de porcentajes de incidencia de la evaluación numero 9.	78
Cuadro 28: ANOVA para PORCENTAJE DE INCIDENCIA	78
Cuadro 29: Contraste Múltiple de Rango para PORCENTAJE DE INCIDENCIA	79
Cuadro 30: Resultados de porcentajes de incidencia de la evaluación	80
Cuadro 31: ANOVA para PORCENTAJES DE INCIDENCIA	81
Cuadro 32: Contraste Múltiple de Rango para PORCENTAJE DE INCIDENCIA	81
Cuadro 33: Resultados de porcentajes de severidad de la evaluación	83
Cuadro 34: ANOVA para PORCENTAJES DE INCIDENCIA	83
Cuadro 35: Contraste Múltiple de Rango para porcentajes de incidencia	84
Cuadro 36: Edad del cultivo frente al promedio de porcentajes	86
Cuadro 37: Costos de producción del biofungicida.	92
Cuadro 38: Costos de agroquímicos utilizados por Hectárea de papa sembrada.	93
Cuadro 39: Costos de aplicación del biofungicida	93
Cuadro 40: Estimación del beneficio económico por venta de jugo de fique.	94

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: Estructura del alcaloide Cafeína	27
Figura 2: Estructura de la saponina con esqueleto esteroideal Esmilagenina.	27
Figura 3: Estructura de un tanino, Ácido gálico.	29
Figura 4: Estructura de los flavonoides: 7-O-pcumaroil kaempferol	30
Figura 5: Estructura de un esteroide tipo esteroil denominado calciferol.	31
Figura 6: Planta de fique (El Tambo N)	33
Figura 7: Producto envasado y almacenado.	62
Figura 8: Muestreo para análisis de suelos	63
Figura 9: Aplicación de biofungicida en plantas recién nacidas	63
Figura 10: Segunda fertilización con 10-20-20	63
Figura 11: Plantas del TA, sin ninguna incidencia de la enfermedad.	64
Figura 12: Plantas del TB, sin ninguna incidencia de la enfermedad	64
Figura 13: Plantas del TC, sin ninguna incidencia de la enfermedad	64
Figura 14: Plantas del TD, sin ninguna incidencia de la enfermedad	64
Figura 15: Plantas del TE, sin ninguna incidencia	64
Figura 16: Grafico de Cajas y Bigotes para porcentaje de incidencia	67
Figura 17: Planta con un brote de gota del TA.	68
Figura 18: Planta sana del TB.	68
Figura 19: Planta sana del TC.	68
Figura 20: Planta sana del TD.	68
Figura 21: Planta afectado por la gota del T.	68
Figura 22: Grafico de Cajas y Bigotes para PORCENTAJE DE INCIDENCIA	71
Figura 23: Grafico de Cajas y Bigotes para PORCENTAJE DE INCIDENCIA	74
Figura 24: Grafico de Cajas y Bigotes para PORCENTAJE DE INCIDENCIA	76
Figura 25: Hojas afectadas por gota del TA.	77
Figura 26: Hojas afectadas por gota del TB.	77

	Pág.
Figura 27: Primera infección por gota del TC.	77
Figura 28: Primera infección por gota del TD.	77
Figura 29: Planta totalmente afectada por gota del TE.	77
Figura 30: Grafico de Cajas y Bigotes para PORCENTAJE DE INCIDENCIA	80
Figura 31: Grafico de Cajas y Bigotes para PORCENTAJE DE INCIDENCIA	82
Figura 32: Grafico de Cajas y Bigotes para PORCENTAJE DE INCIDENCIA	85
Figura 33: Grafica de Edad del cultivo (semanas) versus promedio	87

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. HPLC: Pico para el estándar quercetina a 60 ppm.	102
Anexo B. Reporte porcentual de las áreas para la quercetina a 60 ppm.	103
Anexo C. Reporte porcentual de las áreas para la quercetina a 60 ppm.	103
Anexo D. HPLC: Pico para el estándar quercetina a 160 ppm.	104
Anexo E. Reporte porcentual de las áreas para la quercetina a 160 ppm.	105
Anexo F. Espectro para la quercetina a 160 ppm.	105
Anexo G. HPLC Pico para el estándar quercetina a 260 ppm.	106
Anexo H. Reporte porcentual de las áreas para la quercetina a 260 ppm.	107
Anexo I. Superposición de espectros de estándares	108
Anexo J. Pico para la muestra 1.	109
Anexo K. Reporte porcentual de las áreas para la muestra 1.	110
Anexo L. Espectro para la muestra 1.	110
Anexo M. HPLC: Pico para la muestra 2.	111
Anexo N. Reporte porcentual de las áreas para la muestra 2.	112
Anexo O. Espectro para la muestra 2.	112
Anexo P. HPLC: Pico para la muestra 3.	113
Anexo Q. Reporte porcentual de las áreas para la muestra 3.	114
Anexo R. Espectro para la muestra	114
Anexo S. HPLC: picos para la muestra con adición de estándar (quercetina)	115
Anexo T. Reporte porcentual de las áreas para la muestra	116
Anexo U. Desarrollo del cultivo (variedad Diacol Capiro).	117
Anexo V. Conteo de incidencia de la enfermedad.	118
Anexo W. Incidencia (%) de gota de papa respecto a la edad del cultivo.	119

GLOSARIO

AGRICULTURA ECOLÓGICA: Según el Ministerio de agricultura (2007) también se denomina “Sistema de producción ecológica”, pero, en general, los términos ecológico, orgánico o biológico, son sinónimos y enmarcan todos los sistemas agrícolas que promueven la producción agropecuaria de manera sana y segura, desde el punto de vista ambiental, social y económico. Es un sistema productivo que permite la integración de varios aspectos, como los agronómicos, ambientales, económicos y sociales, con el fin de alcanzar los siguientes objetivos:

- Producir alimentos sanos de alta calidad nutritiva.
- Trabajar en armonía con el medio ambiente, de manera que se comprenda el funcionamiento de los microorganismos, la fauna y la flora.
- Mantener y aumentar a largo plazo la fertilidad de los suelos.
- Permitir el reciclaje de nutrientes minerales y materia orgánica.
- Proporcionar a las especies animales las condiciones de vida adecuadas para realizar su comportamiento innato.
- Permitir que, bajo este sistema de producción, la familia campesina y la comunidad en general obtenga una fuente de ingresos económicos.

BIOCIDAS BOTÁNICOS: Son sustancias naturales que se extraen de plantas, son considerados ambientalmente benignos porque la mayoría de ellos se degradan rápidamente y su efecto en los organismos benéficos es menor perjudicial que los biocidas sintéticos. (O’Farril H, 2004).

BIODEGRADABLE: Sustancia que puede descomponerse a través de procesos biológicos realizados por acción de la digestión efectuada, por microorganismos aerobios y anaerobios.

ESPORAS: Unidad reproductiva de los hongos, que consta de una o varias células.

FERMENTACIÓN: Proceso de reacciones bioquímicas para la obtención de energía, por parte de los microorganismos.

FIBRA: Hilo vegetal extraído de la hoja de fique.

ICTIOFAUNA: Se refiere a la fauna que vive en el agua haciendo énfasis de manera especial a los peces característicos de una región.

PENCA: Hoja de fique que se corta para extraer la fibra.

PLAGA: Cualquier forma, especie, raza o biotipo de planta, animal o agente dañino para las plantas o productos vegetales.

SAPOGENINAS: Las sapogeninas derivadas de las saponinas están caracterizadas por un núcleo esteroidal que en diversas posiciones tiene sustituciones de oxígeno y una cadena lateral relativamente complicada. La reacción hidrolítica o enzimática de las saponinas libera las sapogeninas, cuya estructura se modifica en ocasiones por dicha hidrólisis. Las sapogeninas esteroidales están en plantas, no directamente unidas a la parte aceitosa, sino en asociación al sistema circulatorio de la planta (parte acuosa); éstas son sustancias altamente solubles y pueden ser fácilmente transportadas en los fluidos de las plantas.

SAPONINAS ESTEROIDALES: Las saponinas esteroides son glicósidos esteroides tienen la propiedad de hemolizar los glóbulos rojos y forman espuma abundante y estable al agitar sus soluciones acuosas. Existen dos clases de saponinas: los triterpenoides y las esteroidales. Las primeras constan de 30 carbonos como el ácido quilaico y las segundas, constan de 27 carbonos como la hecogenina.

SURCO: Zanja normalmente recta, estrecha, donde se siembran las semillas.

VARIEDAD: Material vegetal con características genéticas definidas y estables que se obtienen mediante siembra y selección continúa durante varios años.

RESUMEN

El fique (*Furcraea Spp*) es una planta que pertenece a la familia Agavaceae. Se cultiva ampliamente en Colombia, en zonas con temperaturas comprendidas entre 19°C y 23°C. Del fique solo se aprovecha un 4% del total, en la obtención de fibra (cabuya), el 96% restante se desecha al ambiente sin ningún tratamiento, lo cual causa severos problemas de contaminación. De los desechos (96% del total) el 70% es líquido (jugo de fique). Este líquido cual posee compuestos bioactivos que pueden ser utilizados como biocidas orgánicos.

Para demostrar potencial biocida del jugo de fique se evaluó el efecto de éste sobre el hongo *Phytophthora Infestans*, causante de la gota en la papa (*Solanum tuberosum*) que, como se sabe, es una de las enfermedades más frecuentes en este cultivo. En el presente estudio se determinó la presencia de saponinas, flavonoides y alcaloides en el jugo de fique. Posteriormente se elaboró un biofungicida con vida útil de seis meses y se evaluó la efectividad del mismo frente a la gota de la papa. Mediante un Diseño Completamente al Azar (DCA) se evaluó el efecto del biofungicida a diferentes concentraciones (3.25%, 7.5% y 11.25%) y se comparó con el efecto de un fungicida comercial (Manzate) y un testigo, al que no se le aplicó fungicida. Se consideró como variable respuesta el porcentaje de incidencia de la enfermedad. Mediante el análisis de varianza se encontró que no hay diferencia estadísticamente significativa entre el nivel de efectividad del fungicida Manzate y las concentraciones de 7.5% y 11.25% del biofungicida preparado por nosotros. De acuerdo con estos resultados, el jugo de fique se puede utilizar como biofungicida para el control de la gota de la papa por su efecto protector frente al hongo *Phytophthora Infestans*. Probablemente su efectividad biofungicida se deba a las saponinas, alcaloides y flavonoides que contiene.

PALABRAS CLAVE: *Phytophthora Infestans*, *Furcraea Spp*, Jugo de fique, Compuestos bioactivos, Cultivo de papa.

ABSTRACT

Fique (*Furcraea Spp*) it is a plant belonging to Agavaceae family. This plant is cultivated thoroughly in Colombia in areas with temperatures between 19°C and 23°C. Of the all fique only 4% is used for to obtain fiber (cabuya), 96% remaining is discarded to the enviromente without any treatment. This produces severe contamination problems. 70% of the wastes (96% of the all) are liquids (fique juice). This liquid contain rective compounds that could be used as organic biocides.

To demonstrate the biocide potential of the fique juice, was its action evaluated on *Phytophthora Infestans* fungus, the wich pordeces "gota" in potato (*Solanum tuberosum*). In this work, the presence of flavonoids, saponins and alkaloids was determined in the fique juice. Then a biofungicide with six months of duration was elaborated. Its effectivity was evaluated at different concentrations (3.25%, 7.50% and 11.25%). Its effect was compared with a comercial fungicide (manzate) and witness treatment, without fungicide. The percentage of incidence of the illness was the variable answer. According to the variance analysis, there is not statistically significant differences between the level of effectiveness of not Manzate fungicide and 7.5% and 11.25% concentrations of biofungicide. According with the results the fique juce can be usefull as biofungicide in the control potato's gota because of the protector effect on *Phytophthora Infestans* fungus. It is posible that this effect is due ti the presence of saponins, alkaloids and flavonoids.

KEY WORDS: *Phytophthora Infestans*, *Furcraea Spp*, fique juice, Compound bioactives, potato cultivation.

INTRODUCCION

La agricultura ecológica o cualquier otra denominación que propenda por una producción agrícola limpia, promueve la obtención de alimentos sanos, libres de residuos tóxicos organolépticamente aceptables, de alto valor nutritivo y que durante el desarrollo de la producción no causen alteraciones a los recursos naturales tales como el suelo, el agua, el aire, las plantas y los animales.

Existen diversas tecnologías consideradas como agricultura limpia que incorporan, además la espiritualidad como una forma de producción más ética y humana. Ejemplo de ello es la biodinámica y la mesiánica que buscan una mejor relación sociedad - naturaleza desde el mismo acto productivo (Gallego J, 1995). Estas se fundamentan en la necesidad de sacar adelante la producción en poblaciones marginales. Es así, como han pasado de generación en generación mediante la tradición oral de los campesinos, sin acceso a las grandes tecnologías del momento.

Desafortunadamente, por ser esta agricultura tan marginal, es muy poca la oferta de productos y muy poco el conocimiento que tenemos actualmente de ella. Un elemento muy importante para el desarrollo de la agricultura ecológica es el desarrollo y uso de los biocidas botánicos los cuales al ser aplicados en los cultivos presentan grandes ventajas comparativas frente a los biocidas sintéticos, como las siguientes:

Biodegradables; por lo tanto, los controladores biológicos son menos afectados, no se contaminan el suelo y el agua y se disminuye la posibilidad de generar resistencia en las plagas.

Económicos; por esta razón pueden reducirse costos en el manejo de plagas agrícolas.

Fáciles de usar, para cualquier agricultor. Sin embargo, algunos extractos tienen que ser muy bien colados para evitar atoros de boquillas de las fumigadoras. Bajo nivel de toxicidad, lo cual hace que sean de menor manejo ya que presentan un nivel de toxicidad para los humanos inferior al de los productos sintéticos.

Teniendo en cuenta que en la actualidad se busca una producción de alimentos sanos, la agricultura biológica, ecológica, orgánica o cualquier sinónimo es la estrategia que desde el sector rural se debe desarrollar para alcanzar el desarrollo sostenible dado que se fundamenta en cinco principios: ambientalmente sana, económicamente viable, culturalmente aceptable, socialmente justa y éticamente responsable.

1. IDENTIFICACION Y ESTADO ACTUAL DEL PROBLEMA.

Del fique dependen económicamente en el país 70.000 familias, ubicadas por lo general en zonas marginales y conformando el grupo social más deprimido de Colombia. Paradójicamente, el cultivo es uno de los mayores generadores de empleo en el país, pero los productores viven por debajo de la línea de pobreza. El empleo generado por este cultivo participó en el 2001 dentro del sector agroproductivo, con el 0.6% (alrededor de 9.719 empleos). Por tonelada de cabuya procesada se emplean 70 jornales; así, en los últimos 28 años y debido al déficit que ha sufrido la producción fiquera, se han perdido 1.988.000 jornales por año. Esto sin contar los telares artesanales que han sido cerrados (MADR et. al, 2004).

Del total de la planta de fique solamente se extrae la cabuya (fibra natural), la cual representa únicamente el 4% del peso de la hoja. Los residuos del proceso de extracción constituyen el 96%, los que en la cosecha nacional del año 2003 sumaron 518.400 toneladas, porcentaje de desechos aun sin valoración económica. De estos desechos el 70% corresponde al jugo, el cual tiene un gran potencial para la obtención de productos con actividad biocida que se pueden utilizar en el control de muchos patógenos de importancia económica en los principales cultivos de nuestra región.

El lavado de la cabuya es una actividad que ocasiona contaminación de las aguas, dado que el bagazo y el jugo del fique contienen sustancias tóxicas como las saponinas, que al oxidarse desplazan el oxígeno disuelto en el agua, afectando la ictiofauna de las quebradas, además el jugo de fique contiene otras sustancias tóxicas que afectan la disponibilidad del recurso para el consumo humano y animal (Mojica, Paredes).

En Colombia, el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) es uno de los principales productos agrícolas de las zonas de clima frío, que llegó a ocupar en el 2006 un área sembrada total de 168.000 hectáreas. La papa ocupa un lugar muy importante en la canasta familiar de los colombianos, no sólo en las zonas productoras como Antioquia, el Altiplano Cundiboyacense, Santander y Nariño, sino también en regiones consumidoras como la Costa y los Llanos Orientales logrando desplazar a productos propios de la región como son la yuca y el plátano. En el departamento de Nariño, la mayor parte de la producción de papa se concentra en la zona Andina, con un área explotada de 25000 hectáreas por año (Secretaría de agricultura de Nariño, 2005).

El principal limitante del cultivo de la papa es la gota, enfermedad causada por el hongo *Phytophthora infestan.*, Dicha enfermedad llega a causar pérdidas hasta del 100% en la producción cuando se presentan condiciones óptimas para el

desarrollo del hongo. Por lo tanto, el agricultor al no contar en el país con variedades resistentes o tolerantes al patógeno, se ve obligado a realizar continuas aplicaciones de productos químicos sistémicos y protectantes para su control, los cuales no solo incrementan los costos de producción sino que ocasionan una disminución en sus ingresos sin contar también con los daños ecológicos que se generan en las zonas productoras por el uso indiscriminado de estos productos.

2. JUSTIFICACION

Hoy, la introducción de tácticas de control más limpias y amigables con el medio, permiten satisfacer al consumidor con un producto más sano, de igual forma, reducir el número de aplicaciones y costos de producción. Dentro de dichas estrategias se encuentra el uso de biocidas obtenidos a partir de extractos de plantas. En este mismo sentido, se sabe que las sustancias activas derivadas de las plantas, han sido utilizadas como plaguicidas con anterioridad, pero con el desarrollo y difusión de uso de sustancias sintéticas, estos fueron abandonados y hoy su estudio contribuye a una aproximación en la estrategia para el manejo integrado de plagas y enfermedades (Arnason J, et.al, 1989). Para 1994 se conocían alrededor de 300 especies vegetales con este potencial, en los últimos años este número ha crecido considerablemente (Dekker M, 1994).

Hasta el momento, la aplicación del jugo de fique para el control de enfermedades en diferentes cultivos se ha realizado de manera artesanal por los agricultores quienes han comprobado de manera empírica su efecto.

En el departamento de Nariño, como subproducto del beneficio del fique, se producen aproximadamente 103.000 toneladas/año de jugo de fique, que actualmente no está siendo aprovechado de forma alguna y está causando un grave impacto ambiental.

Con este proyecto se pretende lograr un aprovechamiento del jugo de fique mediante el desarrollo de un proceso para la obtención de un biofungicida que pueda ser útil en el control de plagas o enfermedades como la gota (*Phytophthora Infestans*) de la papa, lo cual a su vez contribuiría a mejorar la competitividad de la cadena del fique, pues se valorizaría un residuo obteniendo un producto con valor comercial y alto potencial de comercialización y se contribuiría a mitigar el impacto ambiental causado por dichos jugos.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Caracterizar fisicoquímicamente el jugo de fique (*Furcraea spp.*), elaborar y evaluar un biofungicida útil en el control agroecológico de la gota (*Phytophthora Infestans*) en la papa.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Caracterizar fisicoquímicamente el jugo de fique (*Furcraea spp.*) mediante ensayos de detección, Cromatografía de Gases (CG-FID) y Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC).
- Obtener el biofungicida a partir de los jugos del fique.
- Evaluar la efectividad del biofungicida obtenido mediante tratamientos a campo abierto (*in situ*) en el cultivo de papa.

4. MARCO REFERENCIAL

4.1 BIOCIDAS BOTÁNICOS.

Los biocidas son productos botánicos de origen natural que se utilizan para el manejo y control de plagas en la agricultura orgánica. Estos se consideran ambientalmente benignos porque se degradan rápidamente y su efecto sobre los organismos benéficos es menos perjudicial que el de productos tradicionales. La toxicidad en los humanos y otros mamíferos es variable, pero generalmente es menor que la de los productos sintéticos tradicionales. Las desventajas son mínimas en consideración con sus beneficios. Además estos productos pueden fortalecer la estructura de la planta aumentando la resistencia ante los organismos que la afectan (Farril N, 2004).

Los componentes insecticidas naturales actúan como repelentes e interfieren con el crecimiento, el estímulo de comer, el apareamiento, la producción de huevos y la fertilidad de una gran cantidad de insectos y ácaros. La repelencia puede deberse a que irritan el cuerpo de los organismos y a la formación de una barrera sobre la superficie del follaje (Farril N, 2004).

4.2 PLANTAS CON ACTIVIDAD BIOCIDA.

Se refiere a todas las especies de plantas que cuentan con sustancias químicas que tienen propiedad biocida o repelente.

En la naturaleza existe una gran variedad de plantas con alto contenido de metabolitos secundarios de carácter tóxico. Gracias a ello las plantas pueden actuar como antagonistas de patógenos bióticos, plagas y enfermedades. Los insumos de origen vegetal han sido objeto de estudio en los últimos años con el fin de desarrollar una nueva alternativa para el control agroecológico de plagas y enfermedades en el sector agrícola, reduciendo así las desventajas ocasionadas por el uso de los productos sintéticos con el mismo fin.

En Colombia gracias a la biodiversidad existente se encuentran numerosas especies de plantas que pueden ser investigadas y utilizadas en la elaboración de biocidas botánicos para uso agrícola. Entre esas especies encontramos:

- Tabaco (nicotina)
- Barbasco (rotenona)
- Nim (azadirachtina)
- Crisantemo (piretro)

Dichas especies ya han sido investigadas y utilizadas en el desarrollo de diferentes cultivos, dando excelentes resultados. Sin embargo, todavía hace falta mucha investigación en este tema, ya que existen diversas especies que presentan cualidades especiales que pueden ser aprovechadas para elaborar biocidas, pero que no están siendo explotadas de la mejor manera, como es el caso de la especie *Furcraea spp*, la cual es un cultivo tradicional en Colombia; la cual genera como subproducto de la obtención de fibra un jugo de fique que presenta características especiales de tipo biocida, pero que no se aprovecha, sino que se desecha al ambiente lo que ocasiona grandes problemas al ecosistema.

4.3 METABOLITOS SECUNDARIOS.

4.3.1 Definición. Las plantas medicinales dentro de su metabolismo elaboran una serie de sustancias, denominadas principios activos que cumplen diferentes funciones. Los principios activos son por lo general metabolitos secundarios que provienen de una cadena de oxidaciones y reducciones. A los compuestos del metabolismo secundario se les considera como no esenciales para la vida. El metabolismo secundario sirve para mantener el metabolismo básico en aquellas circunstancias en las que los sustratos normales no pueden ser utilizados para el desarrollo normal de la célula por falta de nutrientes. (Domínguez, 1973)

Las rutas biosintéticas que dan lugar a metabolitos secundarios están entrelazadas, debido a que los productos del catabolismo de un tipo pueden ser inicio de otro. Las variables que afectan el rendimiento de principios activos o metabolitos secundarios en las plantas son: temperatura, humedad, radiación solar, luz y calor, régimen de vientos y composición química del suelo. La competencia por nutrientes con otros organismos es otro factor que influye en la producción de metabolitos secundarios al igual que la protección de insectos o ataque de animales.

4.3.2 Alcaloides. Alcaloides; son aquellos metabolitos secundarios de las plantas sintetizados, generalmente, a partir de aminoácidos. Los alcaloides verdaderos derivan de un aminoácido y son, por lo tanto, nitrogenados. Son básicos (excepto colchicina), y poseen acción fisiológica intensa en los animales aun a bajas dosis con efectos psicoactivos, por lo que son muy usados en medicina para tratar problemas mentales y calmar el dolor.

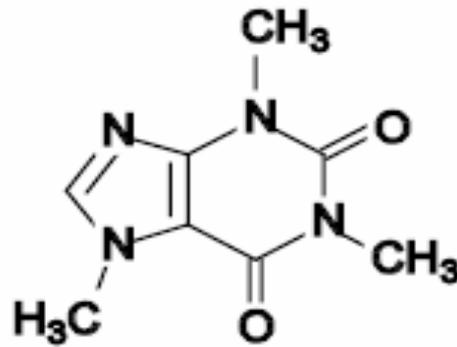


Figura 1: Estructura del alcaloide Cafeína

Los alcaloides son compuestos químicos que poseen un nitrógeno heterocíclico procedente del metabolismo de los aminoácidos; de proceder de otra vía, se define como pseudoalcaloide.

Los alcaloides generalmente actúan sobre el sistema nervioso central. Por ejemplo, la cocaína actúa impidiendo la recaptación de dopamina de la terminal sináptica, lo que produce un mayor efecto de los receptores dopaminérgicos.

4.3.3 Saponinas. Saponina (del latín sapon = jabón), son un grupo de glicósidos que se disuelven en agua y disminuyen la tensión superficial de ésta; por lo tanto al agitar sus soluciones, se forma espuma abundante y relativamente estable. Lo anterior se sustenta porque las saponinas son sustancias muy polares, y es posible extraerlas en caliente y en frío, con agua o alcoholes de bajo peso molecular. Por hidrólisis de las saponinas se pueden obtener carbohidratos y una aglicona llamada genéricamente sapogenina. También se caracterizan por hemolizar los glóbulos rojos.

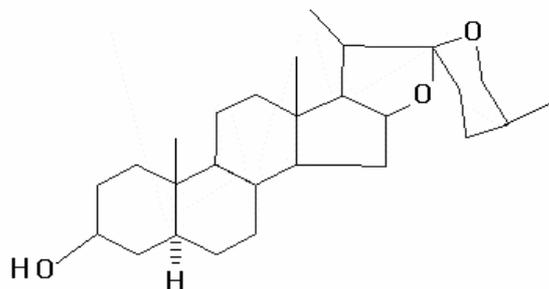
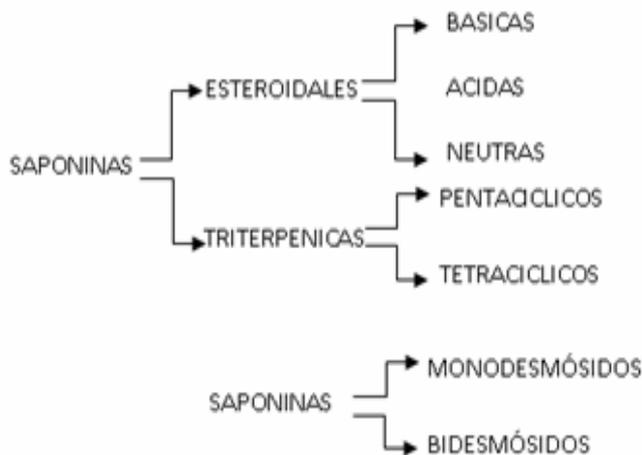


Figura 2: Estructura de la saponina con esqueleto esteroideal Esmilagenina.

Clasificación de las



saponinas

Azúcares comunes de las saponinas.



Saponinas esteroides. Son glicósidos esteroides con un núcleo espirostanio¹ que tienen la propiedad de hemolizar los glóbulos rojos y formar espuma abundante y estable al agitar sus soluciones acuosas.

Distribución Natural. Las saponinas esteroides se encuentran principalmente en varias familias de la clase monocotiledónea, como son: *Liliaceae*, *Dioscoreaceae* y *Amaryllidaceae* (*Agavaceae*). En las dicotiledóneas, se las ha encontrado en las familias *Solanaceae* y *Scrofulariaceae*. En el reino animal, las estrellas de mar constituyen el único ejemplo de animales con saponinas esteroides.

¹ Espirostano: Cadena formada por un anillo de furano y otro de pirano unidos.

4.3.4 Taninos. El término tanino fue originalmente utilizado para describir ciertas sustancias orgánicas que servían para convertir a las pieles crudas de animales en cuero, proceso conocido en inglés como *tanning* ("curtido"). Son compuestos polifenólicos de estructura química diversa con capacidad de curtir la piel y astringentes, es decir precipitan las proteínas.

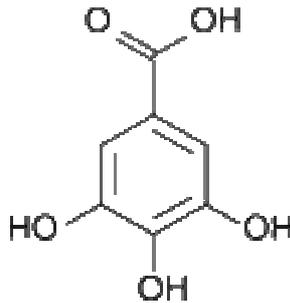


Figura 3: Estructura de un tanino, Ácido gálico.

Son muy abundantes en el mundo vegetal, especialmente en algunas familias (*Fagáceas, Rosáceas, Fabáceas, Mirtáceas, etc.*) y en diversos órganos: raíces-rizomas (ruibarbo), cortezas (quina, roble), leño (catecú), hojas (hamamelis), frutos (cinorrodon).

Combinados con alcaloides y proteínas desempeñan una función defensiva frente a los ataques de insectos.

Clasificación:

- Taninos hidrolizables o hidrosolubles (pirogálicos): en estos se distinguen los taninos gálicos.
- Taninos condensados: no hidrosolubles, tienen una estructura similar a la de los flavonoides y carecen de osas en su molécula.
- Los taninos son sustancias amorfas (sin forma definida), solubles en agua e insolubles en solventes apolares y forman soluciones coloidales, en alcohol y en acetona.

Las acciones farmacológicas más interesantes de los taninos que se pueden mencionar son:

- Astringentes y por tanto antidiarreicos y vasoconstrictores, ya que se unen y precipitan las proteínas existentes en las secreciones.

- Antimicrobianos y antifúngicos.
- Inhibidores enzimáticos.
- Antídotos de alcaloides y metales pesados.

4.3.5 Flavonoides. Pertenecen a un grupo de compuestos naturales arreglados bajo un sistema C6-C3-C6, en el cual dos anillos aromáticos llamados A y B están unidos por una unidad de tres carbonos que pueden o no formar un tercer anillo, que en caso de existir es llamado anillo C. Se conocen unas 10 clases de flavonoides los cuales pueden encontrarse como aglicona o bajo la forma de glicósidos con una o tres unidades de azúcar, generalmente en los carbonos 3 y/o 7, siendo los azúcares más comunes la glucosa, galactosa, ramnosa, xilosa y arabinosa.

Se hallan presente en todas las partes de la planta, algunas clases se encuentran más ampliamente distribuidas que otras, siendo más comunes las flavonas y flavonoles y más restringidos en su ocurrencia las isoflavonas, las chalconas y auronas.

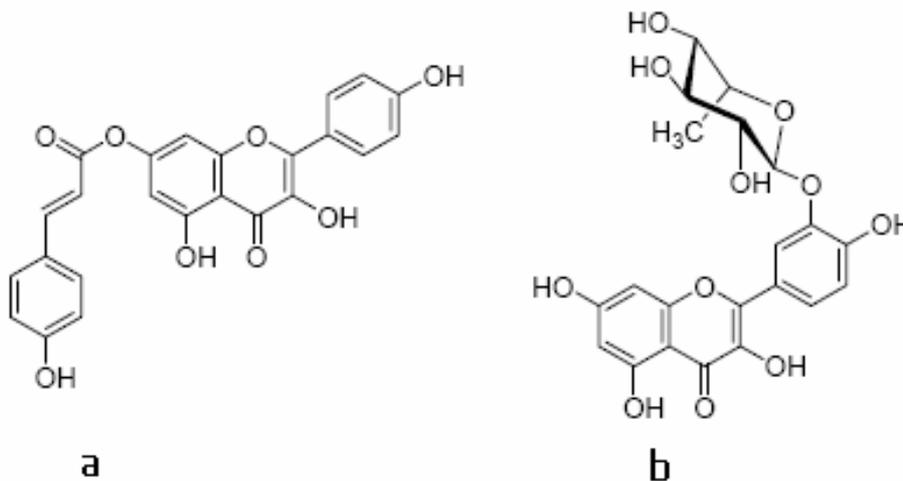


Figura 4: a) Estructura de los flavonoides: 7-O-p-coumaroyl kaempferol
b) Estructura de 3`-O-ramnopiranosil quercetina.

Los flavonoides reciben considerable atención especialmente por su importancia biológica y fisiológica. Son uno de los más grandes grupos de metabolitos secundarios, influyen en la salud humana y animal por su papel en la dieta, el cual

es atribuido a sus propiedades antioxidantes o a su acción estrogénica y hasta un amplio rango de actividades antimicrobianas y farmacológicas.

4.3.6 Esteroides. Los esteroides son derivados del núcleo del ciclopentanoperhidrofenantreno que consta de 4 anillos fusionados de carbono. Poseen diversos grupos funcionales y son anfipáticos (tienen partes hidrofílicas e hidrofóbicas). En los mamíferos como el ser humano, cumplen importantes funciones:

Reguladora: Algunos regulan los niveles de sal y la secreción de bilis.

Estructural: el colesterol es un esteroide que forma la estructura de las membranas de las células junto con los fosfolípidos. Además, a partir del colesterol se sintetizan los demás esteroides.

Hormonal: las hormonas esteroides son:

- Corticoides: glucocorticoides y mineralocorticoides. Existen múltiples fármacos con actividad corticoide, como la prednisona.
- Hormonas sexuales masculinas: son los andrógenos como la testosterona y sus derivados, los anabolizantes androgénicos esteroides; estos últimos llamados simplemente esteroides.
- Hormonas sexuales femeninas como la progesterona.
- Vitamina D y sus derivados.

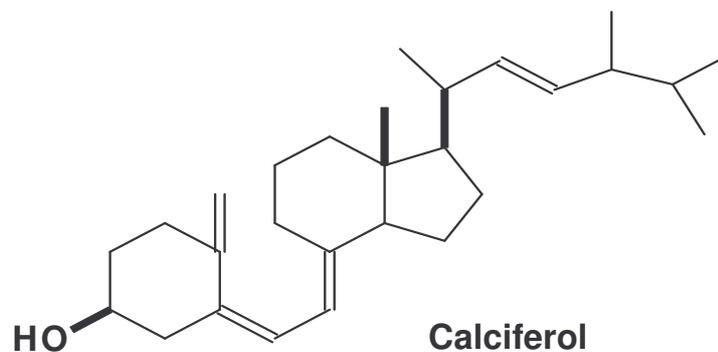


Figura 5: Estructura de un esteroide tipo esterol denominado calciferol.

4.4 FAMILIA AGAVÁCEA.

Las diferentes especies pertenecientes a la familia *Agavácea* tiene un gran importancia frente a la biodiversidad y a la fuente de recursos por lo que se debe conocer sus procesos ecológicos, etnobotánicos, químicos y evolutivos.

Dentro de la familia *Agavácea*, se encuentra la *Furcraea spp*, que es una planta muy importante para conocer sus metabolitos secundarios y su comportamiento, además de ser una especie de cultivo tradicional en Colombia.

4.4.1 Generalidades del cultivo (*Furcraea spp*). El cultivo del fique para la explotación de la fibra ha sido una práctica de la cual dependen numerosas familias Colombianas desde épocas ancestrales. Desde sus orígenes el fique se ha cultivado únicamente para obtener la fibra comúnmente denominada *cabuya*, la cual es solamente al 4% del total de la materia prima que produce la planta.

Las plantas de fique (*Furcraea spp.*), son grandes, con tallo erguido, con alturas que pueden variar de 2 a 7 metros, hojas verdes y fuertes, con una longitud de 1 a 3 metros y 10 a 20 cm de anchas, puntiagudas, acanaladas, y presentan espinas de color marrón, en la mayoría de sus variedades. La altura y grosor del tronco dependen de la edad de la planta y también de la calidad de los suelos y el clima en donde se desarrolle.

El fique presenta floración una vez en toda su vida; al cabo de dicha floración la planta termina su ciclo de vida. Su flor se denomina *magüey*, la cual es de color verde claro y puede medir hasta 7 metros de longitud, de esta germinan las semillas las cuales al madurar se caen al piso, cuando los bulbillos ya están formados, donde enraízan y comienzan a crecer de forma natural; por esta razón se considera una planta vivípara.

Presenta un periodo de vida promedio de 10 a 20 años, en donde se presenta su pico de producción; sin embargo, se pueden encontrar ejemplares con edades iguales o superiores a 50 años (Ministerio de Agricultura, 2006).

La producción de pencas comienza entre los 3 y 6 años de edad, dependiendo de las condiciones de desarrollo del cultivo y termina en el momento de su floración. Las condiciones climáticas óptimas para su plantación comercial son: Temperatura entre los 19 y 23 grados centígrados, altura entre 1.300 y 1.900 m.s.n.m.; humedad relativa entre el 50 y 70%; precipitación de 1.000 a 1.600 mm anuales y una luminosidad promedio de 5 a 6 horas diarias. Dichas condiciones climáticas se cumplen en la mayoría de veredas del Municipio de El Tambo Nariño. Presenta una elevada cantidad de raíces muy delgadas que penetran en la tierra abundantemente dándole facultad de planta anti-erosiva.



Figura 6: Planta de fique (El Tambo N)

4.4.2 Clasificación taxonómica del fique (Cía. de Empaques S.A, 2004).

Reino: Vegetal
Phylum: Spermatophyta
Clase: Angiospermae
Subclase: Monocotyledonea
Orden: Liliiflorae
Familia: Agavaceae
Género: Furcraea

Nombre Común: Fique, cabuya, penca, fique perulero, maguey, cabuya blanca, chuchao, cocuiza.

En Colombia se cultivan diferentes especies de ésta planta:

4.4.3 Variedades del cultivo explotadas en Colombia.

Tunosa Común:

Nombre Científico: *Furcraea Gigantea*.

Nombres Comunes: *Tunosa común, negra común, Fique Tunoso, piteira y pita en Brasil.*

Origen: Brasil en donde crece casi espontáneamente.

Aspecto General: Sus hojas son de color verde brillante con espinas cafés en los bordes; es de larga vida útil, tolerante a suelos pobres en nutrientes, requiere para su desarrollo condiciones de semihumedad, temperatura cálida y exposición a la luz solar.

Esta especie es la que más se cultiva y se explota en el departamento de Nariño y en el Municipio de El Tambo.

Uña de Águila:

Nombre Científico: *Furcraea Macrophylla*.

Nombre vulgar: *Uña de águila, Fique Macho, Perulero, Jardineña.*

Origen: Colombia, crece espontáneamente, en Cauca, Santander, Antioquia, Cundinamarca, Boyacá y Nariño.

Aspecto general: Sus hojas son de color verde claro por encima y ceniza por debajo, se distingue porque tiene espinas encorvadas en sus bordes y un aguijón pequeño en las puntas. Prefiere suelos secos y crece bien en los climas cafeteros (1.200 a 2.000 m.s.n.m.). Produce muy buena calidad y cantidad de fibra. De larga vida productiva (20 años o más).

Ceniza:

Nombre Científico: *Furcraea cabuya*.

Nombre vulgar: *Cabuya hembra, sin espinas, negra o lisa, Fique Cenizo.*

Origen: Colombia, Costa Rica y Panamá.

Aspecto general: Plantas xerófitas de 2 a 7 m de altura, entre los 1.500 y 2.000 m.s.n.m., con tronco grueso de menos de 1 m de alto; sus hojas carecen de espinas y son de color verde y lisas por encima (haz) y grisáceo por debajo (envés), de 1.5 a 3.0 m de largo.

Bordo de Oro:

Nombre Científico: *Furcraea castilla*

Nombre vulgar: *Castilla, espada, filo de barbera, diente de caballo.*

Origen: Colombia.

Aspecto general: Las hojas verdes y brillantes tienen dirección casi vertical, provistas de un margen o franja de color amarillo (carey) y armada con algunas espinas rudimentarias.

Rabo de Chucha:

Nombre Científico: *Furcraea andina*

Nombre vulgar: *Rabo de chucha o penca, maguey, cabuya.*

Origen: Perú y Ecuador y parte del fique nariñense.

Aspecto general: Planta de tronco corto, hojas abiertas cóncavas o casi aplanadas de 1.2 a 1.7 m de largo y 10 a 15 cm de ancho, angostas en la base, aguijones encorvados hacia la parte distal de la hoja que miden de 5 a 8 mm de largo.,

De estas especies se realiza la recolección de sus pencas, para la obtención de la fibra la cual se lava en los ríos y quebradas de la región; luego se seca y se vende a las empresas hilanderas como la Compañía de Empaques de Medellín, la Compañía de Empaques del Cauca, Hilanderías del Fonce, etc.

Los desechos correspondientes al 96% de la materia prima se arrojan al ambiente sin ningún tratamiento y aprovechamiento, de estos el 70% son los residuos líquidos (jugo de fique), que al ser arrojados en ríos y quebradas ocasionan grandes problemas de carácter ambiental. De ahí la necesidad de investigar sus componentes activos para darles un uso industrial y con ello darle valor agregado a este subproducto.

4.4 POTENCIAL BIOCIDA DE LA ESPECIE *Furcraea Spp.*

Del fique se han realizado estudios con excelentes resultados. De la hoja del fique (*Furcraea spp.*), la fibra sólo corresponde al 4% del total; el 96% son desechos de los cuales el 70% es jugo el cual por su alto contenido de saponinas y alcaloides causa la muerte de peces pequeños y grandes. Las saponinas al hidrolizarse, producen sapogeninas y azúcares. Las primeras son precursoras de hormonas y corticoides, entre los que se encuentra la Hecogenina, que es un producto usado como precursor de hormonas en la producción de pastillas anticonceptivas (Gómez y Vanegas, 2001).

El jugo de fique, además de ser un residuo en la producción de fibras naturales, es una sustancia que se caracteriza por tener propiedades tensoactivas, plaguicidas, y por poseer esteroides naturales entre los que se han encontrado saponinas y fitoesteroles (Gómez y Vanegas, 2001).

Estudios in vitro del extracto de fique realizados para determinar la acción biocida de esta sustancia sobre las estructuras micelial y conidial de los hongos fitopatógenos *Colletotrichum gloeosporoides* y *Sclerotinia sclerotiorum*, causantes

de las enfermedades conocidas como "Putridón Algodonosa del Lulo" (*Solanum quitoense*) y "Antracnosis del Tomate de Árbol" (*Solanum betacea*) demuestran que esta sustancia inhibe el desarrollo micelial de *C. gloeosporoides* cuando la concentración del extracto de fique en medio de cultivo PDA es superior al 5% y afecta la germinación conidial cuando la concentración del extracto es superior al 1%. Con respecto al efecto sobre *S. sclerotiorum*, concentraciones de extracto de fique superiores al 4% inhibieron el desarrollo micelial del hongo en el medio de cultivo PDA (Gómez H, 2001). Los anteriores resultados permiten concluir que el extracto de fique posee una acción biocida para el desarrollo de los hongos fitopatógenos, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Sclerotinia sclerotiorum*.

En las Facultades de Ingeniería Química e Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Pontificia Bolivariana de Medellín (UPBM), Acevedo y Serna realizaron una optimización de la obtención del extracto vegetal (material orgánico) del fique y además observaciones del efecto biocida sobre los hongos *Trichoderma spp.* y *Fusarium spp.* donde se observaron resultados positivos (Acevedo y Serna, 2004).

En la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, Arias y Cano realizaron un estudio de evaluación y determinación de la eficacia de las propiedades insecticidas del jugo de fique, a nivel de laboratorio y bajo invernadero, como controlador de cuatro plagas (*Frankliniella occidentales Pergande*, *Trialeurodes vaporariorum Weswood*, *Liriomyza trifolii Burgess* y *Myzus persicae Sulzer*) reportadas en cultivos de flores. Así mismo, se determinó la actividad disuasora o repelente sobre las plagas *Liriomyza trifolii* y *Trialeurodes vaporariorum*. Como resultado las dos concentraciones evaluadas del jugo de fique, mostraron efectos significativos sobre todos los insectos utilizados (Arias y Cano, 1996).

Además, se pudo demostrar que no se presenta atracción o disuasión, del jugo del fique hacia los adultos de mosca blanca y minador, pero si se constató, que hubo un efecto de disuasión a la oviposición en ambas especies, siendo mayor el efecto para el fique al 7%, seguido del fique al 3.5%. En campo, a medida que pasaron las semanas, los investigadores observaron que se fue marcando la misma tendencia arrojada en los ensayos de toxicidad en laboratorio para todos los insectos excepto, para la mosca blanca. Encontraron que posiblemente el fique al 7% tenga efectos antialimentarios y efectos sobre los estados inmaduros del minador (Arias y Cano, 1996).

Por otro lado el uso del jugo de fique en la agricultura tradicional ha sido empírico y existen experiencias por parte de agricultores quienes hablan de las bondades de su utilización como repelente, fertilizante líquido edáfico, propiedades curativas en enfermedades foliares, de actividad sistémica, como herbicida, fungicida, insecticida y fertilizante. (Agricultores de El Tambo Nariño, comunicación personal).

Gracias a un estudio realizado en la Universidad El Bosque, Martínez y Caicedo demostraron que el jugo de fique es una sustancia con un elevado grado de toxicidad. Ello se debe a las propiedades fisicoquímicas ya que contiene un alto contenido de proteínas sapogénicas, esteroides y minerales. En dicho estudio se determinó que los componentes mencionados anteriormente son extremadamente tóxicos para los peces y los organismos acuáticos. En un bioensayo con peces se halló que la concentración letal media CL50 (96 horas) de los jugos del fique es de 1 mg/L (miligramo por litro) o de 1 ppm (parte por millón) en alevinos de trucha arco iris de una pulgada. Es decir, que 1 ppm es la concentración necesaria para matar la mitad de la población de peces estudiada e igualmente se halló que 3 ppm es la concentración crítica muriendo el total de peces expuestos para cada especie (Martínez y Caicedo, 2002).

Cuadro 1. Composición Química de la Hoja de Fique

Componentes de la hoja de fique				
Fibra		Jugo	Bagazo	
Cenizas	0.7%	Clorofila	Cenizas	12.2%
Celulosa	73.8%	Carotenoides	Extracto Etereo.	3.64%
Resinas, ceras y grasas	1.9%	Saponinas Azúcares	Proteína Elementos Nitrogenados	9.84% 71.29%
Lignina	11.3%	Resinas	Calcio	21.65%
Pentosanos	10.5%	Flavonoides Ácidos orgánicos	Fósforo Magnesio	0.09% 0.2%
TOTAL	98.2%	Alquitranes Agua Lignina Calcio Lipoides Fósforo	Fósforo 1.81% Sodio 0.04% Cobre 14 ppm Hierro 647 ppm Manganeso 33 ppm Zinc	1.81% 0.04% 14 ppm 647 ppm 33 ppm 17 ppm

*Fuente: Arroyave & Velásquez, 2001.

Tanto las características físicas como la composición química del fique varían según la planta y el cultivo. En el cuadro 1, se muestra la caracterización química de la hoja del fique para cada uno de sus principales componentes que son la fibra, el jugo y el bagazo.

4.5 INVESTIGACIONES AFINES.

Además, en la Universidad de las Américas en Puebla México Fernández realizó un estudio a la especie *Agave Salmian*, en la cual se encontraron metabolitos secundarios como saponinas, triterpenos, flavonoides, alcaloides y taninos, en las que resultaron las pruebas preliminares con resultados positivos los cuales se presentan en el cuadro 2 (Fernández, 2005).

Por lo anterior y conociendo que el *Agave Salmian* pertenece a la familia Agavaceae al igual que el fique (*Furcraea Spp*); se realizaron pruebas de detección y análisis cromatográficos específicos para los mismos compuestos encontrados en el *Agave Salmian*; ya que es muy probable encontrar estos metabolitos secundarios en la especie *Furcraea spp*.

Cuadro 2: Resultados de pruebas preliminares aplicadas al Agave Salmian.

Grupo de metabolitos	Tipo de prueba	Resultado
Saponinas	Ensayo de la espuma	(++)
Triterpenos		(+)
Flavonoides	Shinoda	(+/-)
	Hidróxido de sodio	(+)
Alcaloides	Mayer	(++)
	Wagner	(+++)
	Hager	(+)
	Dragendorff	(+++)
Taninos	Gelatina	(+)
	Cloruro férrico	(+/-)

(+++): Contenido alto, (++): (contenido moderado), (+/-): parcialmente positivo (-): Negativo

Fuente: Fernandez L, *Fitoquímica del Agave salmian*, 2005.

Debido a las características especiales y a las sustancias presentes en el jugo de fique se desea continuar su investigación para encontrar otras alternativas de uso del mismo y así alcanzar mayor desarrollo de la cadena del fique y de la economía de los productores de la región.

Se ha encontrado que las sustancias activas como alcaloides (Valencia et al, 2007), flavonoides (Guenounea, 2001), saponinas y triterpenos (Apablaza, 2000) presentan un efecto biocida muy importante.

Gerald Blunden y otros investigadores aislaron saponinas esteroidales a partir de las hojas del *Agave aurea*, *A. avellanidens*, *A. cerulata*, *A. cerulata ssp. subcerulata*, *A. cocui*, *A. goldmaniana*, *A. shawii* y *Furcraea macrophylla*. En todas estas especies, la hecogenina y la tigogenina fueron las sapogeninas aisladas en mayor cantidad. Se encontró Gitogenina en los extractos de todas las especies probadas a excepción del de *A shawii*. La manogenina y la 9-dehydromanogenina fueron encontradas en todas las especies menos en el *A. cocui*. La chlorogenina se aisló del *A cocui*, pero no se encontró en las otras especies. También se encontraron variaciones cualitativas y cuantitativas en los volúmenes del sapogeninas presentes en los extractos de las mismas especies

provenientes de regiones diferentes en los casos del *A. cocui* y *Furcraea macrophylla* (Blunden et. al, 1980).

En la Universidad Tecnológica de Pereira, Niño y otros investigadores realizaron una evaluación por antibiosis de la actividad antibroca de 21 extractos metanólicos de las plantas recolectadas en la Reserva Natural Bremen-La Popa (Quindío). Los bioensayos se realizaron bajo condiciones controladas. Se encontró que algunos extractos metanólicos mostraron actividad contra la broca del café (*Hypothenemus hampei*, Ferrari). Con base en los resultados obtenidos, el 52.4% de los extractos metanólicos evaluados a través del ensayo de antibiosis presentaron actividad contra la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferrari), de estos el 28.6% pertenecieron a la familia Asteraceae, seguidos por los extractos de las Solanaceae y Euphorbiaceae ambos con el 9.5% y la familia Rubiaceae con el 4.8% (Niño et.al, 2007).

En la Universidad del Quindío, Valencia y otros investigadores realizaron la evaluación de la actividad de *Bocconia frutescens* L. como insecticida sobre *Hypothenemus hampei* F. Extractos de hojas, semillas, y corteza se estudiaron en concentraciones de 2000 ppm, 1000 ppm y 500 ppm, encontrando que la corteza posee la mayor actividad insecticida. Posteriormente, se evaluó la actividad de un extracto rico en alcaloides. La mayor actividad insecticida la manifestó la corteza *Bocconia frutescens* presentando 77.8% de mortalidad de individuos a concentración de 2000 ppm, en comparación de hojas (62.2%) y semillas (64.4%) a la misma concentración. El extracto de corteza rico en alcaloides presentó actividad insecticida del 15.5 %, lo que indica que parte de la actividad insecticida de la planta es complementada por los alcaloides presentes en ella (Valencia et.al, 2007).

En otra investigación se encontró que en las hojas de *Lupinus ballianus* C.P., Smith, estaban presentes 5 flavonoides y 5 alcaloides, entre otros metabolitos. El flavonoide genisteina fue determinado utilizando la espectroscopia UV-Visible. El espectro IR reveló la presencia del alcaloide lupinina o hidroxilupanina. El flavonoide y el alcaloide tienen marcada acción antibacteriana y el último muestra además una actividad antifúngica muy eficiente (Fuertes et.al, 1998).

En un estudio realizado por Guenounea, la presencia de isoflavonoides como la fitoalexina del isoflavonoide desarrollada en las raíces de la alfalfa por actividad inducida por la acción de un hongo patógeno (*solani de Rhizoctonia*), se evidenció que estos compuestos presentan una actividad antifúngica muy representativa (Guenounea et.al, 2001).

En la UNMSM, Facultad de Farmacia y Bioquímica Fuertes y otros investigadores demostraron que, la presencia de flavonoides y alcaloides, les confiere la actividad antibacteriana, y actividad antifúngica en el caso de los alcaloides. La acción antimicrobiana se debería a que los flavonoides por la presencia de hidroxilos

fenólicos en su estructura, penetran fácilmente a través de la membrana celular bacteriana, se combinan y precipitan las proteínas protoplasmáticas desnaturalizándolas y actuando como venenos protoplasmáticos. La acción antibacteriana y antifúngica de los alcaloides se podría deber a la presencia de nitrógeno en su estructura como amina o amida (Fuertes et.al, 1998).

En la Pontificia Universidad Católica de Chile, Apablaza y otros investigadores realizaron dos experimentos para evaluar la actividad antifúngica de saponinas presentes en extractos de quillay sobre oídio de las cucurbitáceas (*Erysiphe cichoracearum* y *Sphaerotheca fuliginea*) en condiciones de ataque natural. Los resultados en pepino demostraron que QL 1000² logró un máximo de 51,8% de control de la enfermedad con un promedio de 37,9%, mientras que QL Ultra¹ sólo alcanzó 27,8% de control con un promedio de 15,8%. En zapallo de guarda, se observó que QL 30B logró 52,2% de control con un promedio de 41,7%, mientras que QL ultra alcanzó un 54,6% de control con un promedio de 34,7%. Las dosis bajas y medias promediaron niveles de control de oídio de las cucurbitáceas del 42% y 49%, respectivamente. Myclobutanil en pepino alcanzó un 90% de control, mientras que azufre redujo la enfermedad en un 59,6 y 78% para zapallo y pepino, respectivamente (Apablaza et.al, 2000).

4.6 PATOSISTEMA *Phytophthora Infestans* / *Solanum Tuberosum*.

4.6.1 Origen de la papa cultivada (*Solanum Tuberosum*). El antropólogo Engel (1964), encontró fosiles de papa con una antigüedad verificada de unos 10.000 años, al sureste de Perú y noreste de Bolivia, coincidiendo con la domesticación en dicha región a partir de *Solanum Leptophyes*, que originó la primera especie cultivada *Solanum Stenotomun* (Estrada, 2000).

La papa se originó a 3800 mnsn, 17°94' latitud sur y 68°03' longitud oeste. Las condiciones climáticas actuales corresponden a una Temperatura promedio de 13.1°C, precipitación promedio (6 años) anual de 376.1 mm y alta luminosidad. Dichas condiciones son desfavorables para el desarrollo del patógeno *P. Infestans*, causante de la gota de la papa, de manera especial la alta luminosidad ya que se ha comprobado que los esporangios reducen en un 95% la germinación con una hora de exposición a la alta luminosidad de la luz solar (Sunseri y Johnson, 2002).

4.6.2 Origen del patógeno (*Phytophthora Infestans*). *Phytophthora* significa destructor de plantas, y la especie *Infestans* es la que causa el tizón tardío o gota de la papa. Esta enfermedad apareció en Europa Continental, en las islas británicas, por lo que se dieron muchas teorías sobre su origen, de manera especial atribuidas al mal clima (lluvias excesivas, y polución industrial). Esta enfermedad causó grandes destrucciones de cultivo en los años 1840s, con

² QL 1000 y QL Ultra son productos de quillay de Natural Response S.A., cuyo componente activo son las saponinas extraídos de quillay.

efectos de pobreza y hambre que causaron grandes cambios sociales y económicos en Irlanda, su población se redujo en una cuarta parte, por la muerte de un millón de personas y la migración de otro gran número. Ninguna otra enfermedad ha causado tanto impacto social (Erwin y Riveiro, 1996).

Debido a que el patógeno fue asociado al cultivo de la papa que era el cultivo básico en la alimentación a escala mundial tomó gran importancia el estudio del patosistema *Phytophthora Infestans* / *Solanum Tuberosum*, dentro de un contexto de coevolución (Daly, 1996).

4.6.3 Interacción del patógeno con plantas altamente susceptibles. Cuando los esporangios o zoosporas liberadas por el patógeno (*Phytophthora Infestans*) llegan a los tejidos de la planta huésped, emiten un tubo germinativo y entran por los estomas ubicados en el envés de la hoja. Después de la germinación de las esporas, se desarrolla el apresorio y ocurre la penetración al cabo de 16 horas formando las vesículas de infección intracelular y las células epidermales (Vleeshouwers et. al, 2000).

Después de 46 horas de la inoculación de las plantas susceptibles se puede observar una necrosis en el sitio de inoculación. Es decir que durante este tiempo es posible detectar la aparición de la enfermedad en la planta (Vleeshouwers, 2000).

La gota o tizón tardío de la papa (*Phytophthora Infestans*), es la enfermedad más importante de este cultivo. Al inicio se forman en las hojas unas manchas que al principio son pardas y luego se vuelven negras. Estas manchas empiezan en los bordes de las hojas y van avanzando hacia el centro de las mismas.

4.6.4 Productos para el control de la enfermedad. La enfermedad se controla con los siguientes productos:

Preventivos: Captan + zineb, Cobre + folpet, Cobre + Mancoceb, Maneb, Ofurace, Propineb.

Preventivos y curativos: Benalaxil + mancoceb, Cimoxanilo + mancoceb, Clortalonil, Fosetil Al + mancoceb, Metalaxil + Mancoceb, etc.

4.6.5 Variedades de la papa. Existen una gran cantidad de variedades de papa, las cuales difieren principalmente en características de periodo vegetativo, rendimiento comercial, calidad industrial y nivel de sensibilidad a plagas y enfermedades. A continuación en el cuadro 3, se mencionan algunas de las variedades más explotadas a nivel mundial, su país de origen y tiempo. Es importante destacar que en Colombia tenemos cinco de estas variedades. En la siguiente tabla se muestran variedades de papa, su lugar de procedencia y año de clasificación:

De 30 variedades de papa generadas por el DIA, ICA, PRODUCTORES UNIPAPA, CORPOICA en Colombia, 10 de ellas son de gran importancia comercial. La variedad Parda Pastusa es la más cultivada y la de mayor consumo en fresco a nivel nacional. En segundo lugar está la Diacol Capiro, conocida como R12 negra, que se utiliza como materia prima para la industria, producto de exportación y para consumo en fresco. Esta variedad es la más cultivada en el Departamento de Antioquia (90%). Las variedades ICA Puracé, ICA Nevada y Criolla, se cultivan en pequeñas áreas en los municipios de La Unión, El Santuario y Marinilla respectivamente.

En los siguientes cuadros 4 y 5, se indican las características de las dos especies más comunes en el departamento de Nariño y una de las cuales (DIACOL CAPIRO) fue la variedad utilizada en la evaluación del biofungicida elaborado a partir del jugo de fique.

Las dos variedades Diacol Capiro y papa Criolla o Yema de huevo son de gran valor comercial, y además son muy susceptibles a la gota, por tal razón son muy apropiadas para evaluar la efectividad de nuevos fungicidas frente al patógeno *P. Infestans* causante de la gota o tizón tardío en la papa.

Cuadro 3: Variedades de la papa y procedencia.

Variedad	Procedencia	Año
Alpha	Holanda	1967
Merijke	Holanda	1978
Draga	Holanda	1967
Jaerla	Holanda	1969
Sinaeda	Holanda	1979
Diamant	Holanda	1982
Spunta	Holanda	1980
baraka	Holanda	1981
ICA Guantiva	Colombia	1974
ICA San Jorge	Colombia	1977
ICA Puracé	Colombia	1976
Diacol Capiro	Colombia	1976
Diacol Monserrate	Colombia	1976
Merideña	Venezuela	1974

Fuente: FONIAP DIVULGA, 1983

Cuadro 4: Características de la variedad Diacol Capiro

Adaptación	2000 a 2800 m.s.n.m. Se cultiva en Antioquia, Cundinamarca, Boyacá y Nariño.
Periodo vegetativo	5-6 meses
Rendimiento comercial	25-30 ton/ha
Materia seca	22.0% (peso específico 1.085)
Porcentaje de azúcares reductores	0
Periodo de reposo	2 meses (15°C y 90°C de HR)
Calidad culinaria	Buena para el consumo en fresco
Calidad industrial	Excelente para papa a la francesa
Enfermedades	Susceptible a la gota (<i>Phytophthora Infestans</i>) y la rona (<i>spongospora subterránea</i>)

Fuente: FONIAP DIVULGA, 1983

Cuadro 5: Características de la papa criolla o Yema de huevo

Adaptación	2600 a 2800 m.s.n.m. Se cultiva a pequeña escala
Periodo vegetativo	4 meses
Rendimiento comercial	15 ton/ha
Materia seca	22.8% (peso específico 1.099)
Porcentaje de azúcares reductores	0.1
Periodo de reposo	No tiene
Calidad culinaria	Excelente para el consumo en fresco
Enfermedades	Susceptible a la gota (<i>Phytophthora Infestans</i>).

Fuente: FONIAP DIVULGA, 1983

5. DISEÑO METODOLOGICO

5.1 MATERIALES Y EQUIPOS.

5.1.1 Materiales

- Acetato de etilo.
- Acido clorhídrico concentrado.
- Acido fórmico.
- Metanol absoluto.
- Etanol 96%.
- Acido cítrico comercial.
- Acido acético 96%
- Magnesio metálico.
- Metanol para HPLC.
- Acido acético para HPLC
- Estándar quercetina pura.
- Reactivos de: Dragendorff , **Wagner**, Mayer, Molish y Hager.
- Vainillina.
- Cloruro férrico.
- Sangre.
- Amoníaco.
- Butanol.
- Anhídrido acético.
- Amoníaco concentrado.
- Cloroformo concentrado.

5.1.2 Equipos.

- Balanza analítica de 0.01 g de precisión.
- Material de cristal pirex.
- Estufa eléctrica.
- Quitasato.
- Bomba de vacío.
- Potenciómetro calibrado con buffer de referencia.
- Refractómetro de escala de 0 - 32.
- Lámpara UV.
- Rotavapor.
- Cromatógrafo líquido, HPLC, Agilent 1100.
- Columna ODS 250mm*4.6mm (5 micras).

- Potenciómetro calibrado con buffer de referencia.
- Termómetro (-10 a 240°C)
- Montaje de extracción líquido-líquido.
- Refrigerador.
- Equipo de CG-FID Shimadzu CG-17 A.
- Columna capilar DB-5 J&W (30mx0.25mm ID 0.25µm).
- Gas Carrier: Helio.
- Detector FID.

5.2 METODOLOGÍA.

5.2.1 Caracterización fisicoquímica del jugo de fique (*Furcraea spp.*):

Recolección de muestras de jugo de fique (*Furcraea spp.*). El jugo de fique se recolectó en el municipio de El Tambo Nariño, se empacó en un recipiente plástico hermético, enfriado con hielo y se guardó en una caja de icopor, para su transporte vía terrestre hacia la Universidad de Nariño.

Posteriormente se realizó una adecuación del jugo eliminando sustancias sólidas presentes como residuos de fibra, mediante el proceso de filtración al vacío. Teniendo en cuenta que el jugo de fique realiza una fermentación a temperatura ambiente, se mantuvo la cadena de frío con el fin de evitar este proceso.

Determinación de la densidad relativa. Una muestra de jugo refrigerada se dejó en reposo hasta llegar a la temperatura ambiente (18 - 20°C). Se llenaron tres picnómetros de 25 ml, y se pesaron de manera independiente en una balanza analítica con precisión de 0.01 gramo al igual se pesaron tres picnómetros con el agua destilada de referencia.

La densidad relativa se calcula como el cociente entre la masa de jugo y la masa de agua. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

Determinación del pH. El pH se determinó por triplicado con cada una de las muestras a temperatura ambiente (18 a 20°C). Para este proceso se utilizó un potenciómetro calibrado con un buffer de referencia.

Punto de ebullición. Se tomó una muestra de 100 ml de jugo de fique en un beaker de 250 ml y se lo sometió a un proceso de calentamiento en una estufa eléctrica, se realizó seguimiento de la variación de la temperatura hasta que se volvió constante (T° de ebullición).

5.2.2 Análisis fitoquímico preliminar. Una muestra representativa de jugo de fique fue sometida a unas pruebas cualitativas que consistieron en reacciones de coloración y ensayos de detección, para tal fin se llevaron a cabo una serie de procedimientos que se mencionan a continuación.

Se realizó una extracción líquido-líquido, con diferentes disolventes como alcoholes: metanol, butanol, n-butanol y/o soluciones hidroalcohólicas (metanol-agua y etanol-agua). Posteriormente se evaporaron los solventes mediante un rota evaporador para obtener los extractos alcohólicos deseados. Luego el jugo de fique fue sometido a unas pruebas cualitativas que consistieron en reacciones de coloración y ensayos de detección de la siguiente manera:

Detección de alcaloides. Una porción de la muestra, se disolvió en ácido clorhídrico concentrado, y luego se calentó la solución con agitación al baño maría durante unos 5 minutos. A continuación se enfrió y se filtró.

Se colocaron 2 ml del filtrado ácido en 2 tubos de ensayo a los cuales se les añadieron 2 gotas de los reactivos de Dragendorff, Wagner y Mayer. Se considera positiva la prueba en donde aparece un precipitado o turbidez (Domínguez, 1973).

Detección de saponinas. Se realizaron las siguientes pruebas y ensayos.

a) Ensayo de la espuma o agua caliente. Se disolvió una porción de la muestra en agua caliente y se agitó vigorosamente durante unos 3 a 5 minutos. La formación de espuma con apariencia de panal de abeja, estable por unos 30 minutos, se considera positiva (Domínguez, 1973).

b) Prueba de Molish. Esta prueba sirve para detectar la presencia de grupos reductores presentes en la muestra. Se transfirieron 4 ml de la muestra a un tubo de ensayo y se le añadieron 2 gotas del reactivo de Molish (solución alcohólica de alfa-naftol). La solución se tornó de color marrón; luego se agregó ácido sulfúrico concentrado. La aparición de un color púrpura en la interfase y el desprendimiento de calor (la reacción es exotérmica) indican que la prueba fue positiva (Alemany M, 1983).

c) Ensayo de Hemólisis. A una suspensión de glóbulos rojos en solución salina diluida, se le añadió una solución de la muestra que se presume que es o que contiene saponinas. Si los glóbulos rojos se rompen (lisan o hemolizan), se asume que la prueba es positiva (Fragoso, 2001).

Este ensayo, junto con el de la espuma, cuando ambos resultan positivos en una muestra vegetal (extracto, fracción ó sustancia pura) permiten establecer que la muestra es ó contiene saponinas.

Detección de taninos. Se tomó una porción del extracto etanólico, se filtró y del filtrado se tomaron alícuotas de 1 ml para las pruebas de Cloruro férrico (FeCl_3) y Vainillina. Para ambos casos se considera positiva la prueba si aparece un precipitado (Fragoso, 2001).

Detección de flavonoides. Se realizaron las siguientes pruebas y ensayos.

a) Prueba de Shinoda. Se colocaron varias limaduras de magnesio en un tubo de ensayo. Se añadieron unos 2 ml del filtrado y por la pared del tubo, gota a gota se dejaron caer varias gotas de HCl concentrado. La aparición de colores naranja, rosado, rojo o violeta se considera positiva para la existencia de flavonoides en la muestra (Fragoso, 2001).

b) Prueba de vapores de amoníaco. Una porción de extracto etanólico se disolvió con más etanol. Se impregnó una cinta de papel filtro con el extracto y se dejó secar a temperatura ambiente; posteriormente se sometió la cinta a la acción de vapores de amoníaco concentrado. El desarrollo de un color amarillo se considera resultado positivo (Fragoso, 2001).

5.2.3 Detección de Esteroides. Se realizaron las siguientes pruebas y ensayos.

a) Prueba de Liebermann – Buchard. Se tomó una muestra del extracto, se diluyó en cloroformo, se le agregaron unas gotas de anhídrido acético y varias gotas de ácido sulfúrico concentrado y se agitó la mezcla, si se torna de color violeta, azul y finalmente verde se consideran resultado positivo (Alemany M, 1983).

b) Prueba de Rosenhein. A partes alícuotas de 1 ml de la muestra se le añadieron 2 ml de ácido tricloroacético al 40% en cloroformo; se agitó el conjunto y se observó si se producía alguna coloración (Alemany M, 1983).

5.2.4 Análisis cromatográfico. Se realizó un análisis mediante Cromatografía de Gases y Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia de las sustancias principales encontradas en el análisis fitoquímico preliminar y de aquellas que se han reportado en la literatura para el jugo de fique y que presentan potencial biocida.

Análisis de alcaloides mediante Cromatografía de gases (CG-FID). Se llevó una muestra de 60 ml de jugo de fique a los laboratorios especializados de la Universidad de Nariño en donde se realizó un análisis Cualitativo Tentativo donde se aplicó la Metodología Basada en Wink Michael (1995) y en el texto caracterización de compuestos nutritivos, no nutritivos y calidad proteica (Bartholomai et al, 2000)

Se Filtró la Muestra para separar sólidos suspendidos, se adicionó a 10 ml de muestra 25 ml de HCl 0,5 N, se dejó en reposo por 30 minutos. Se centrifugó a 14.000 rpm durante 10 minutos. Al sobrenadante se añadió 3 ml de NaOH 6M a pH entre 11-13. Al extracto basificado se añadió 30 ml en tres porciones de diclorometano grado HPLC y se separó las fases en embudo de separación.

Posteriormente se llevó a sequedad el solvente. Se adicionó 1 ml de metanol grado cromatográfico al extracto seco, se filtró en membrana milipore e inyectó al Cromatógrafo de Gases equipado con Detector FID.

Equipo: Cromatógrafo de Gases con detector FID SHIMADZU GC-17 A.
Columna Capilar: DB-5 J&W (30m x0.25m ID 0.25µm),
Gas Carrier: Helio 1ml/min.
Modo Inyección: Split 1:30
Temperatura Inyector: 250°C.
Temperatura Detector FID: 280°C.
Programación de Temperatura de columna: 180°C (2 min) 300°C (10 min) 5°C/min.

Se realizó la identificación de los posibles componentes con el Índice de Retención de Kovalts calculados con una serie de n-alcanos (RESTEK Alta Pureza) C6-C32.

Literatura de los lk Teóricos:

- a. Tsvetelina Doncheva , Strahil Berkov , Stefan Philipov. Comparative study of the alkaloids in tribe Datureae and their chemosystematic significance. *Biochemical Systematic and Ecology*. Elsevier. 2006
- b. Assem El-Shazly. Pyrrolizidine Alkaloid Profiles of Some *Senecio* Species from Egypt. Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Zagazig University, Egypt. 2002.

Análisis de saponinas mediante CCD y Espectrofotometría UV VIS. Debido a que fue imposible la consecución de los estándares de saponinas para realizar la cuantificación de las mismas mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC), se realizó una investigación bibliográfica al respecto. De acuerdo con Segura (2004) la cuantificación de saponinas se llevó a cabo de la siguiente manera:

- Autólisis o autofermentación. Cuatro muestras de jugo de fique fueron dejadas en reposo a temperatura ambiente, por separado en una probeta, hasta completar para cada una un tiempo de autólisis de 4, 6, 8 y 10 días, al cabo de los cuales se congelaron a -4°C.
- Hidrólisis del jugo de fique. Se descongelaron las muestras de jugo de fique a temperatura ambiente y se hidrolizó con ácido sulfúrico concentrado (95-97%), una vez hidrolizado se sometió a reflujo con agitación durante 7 horas a una temperatura de 94-95°C, al cabo de las cuales se enfrió, se filtró con embudo buchner, a presión reducida, luego se neutraliza con hidróxido de sodio al 10%, se volvió a filtrar. El residuo obtenido se secó y se pesó. De esta forma se obtuvo una torta para cada tiempo de autólisis.

- **Extracción.** Una cantidad determinada de cada torta se colocó en papel filtro y se extrajo con heptano en un equipo de soxhlet durante 8 horas, treinta minutos a una temperatura de 90 a 91°C. El extracto se filtró a presión reducida (52 mmHg), se dejó 24 horas en reposo para permitir la cristalización y después se filtró nuevamente obteniendo un sólido color verde muy pálido.

Posteriormente se lavaron con heptano frío y se recrystalizaron con etanol, a los cristales obtenidos se les llamó sapogeninas crudas.

- **Identificación.** Se utilizaron muestras de sapogeninas crudas y se realizaron Cromatografías en capa Delgada con patrones de hecogenina y tigogenina.

Se emplearon cromatofolios de aluminio 5x20 cm, recubiertos de sílica gel GF₂₅₄. Como fase móvil se utilizó tolueno: acetato de etilo (6:4). Como agentes para revelado, se usaron: Una lámpara de luz Ultravioleta de onda corta y de onda larga y/o aspersion con ácido sulfúrico al 50% y calentamiento a 100°C. Se realizó la lectura de las placas para determinar el Rf.

- **Cuantificación de Hecogenina.** Contando con el estándar de hecogenina se realizó una curva de calibración. Se sometió a un análisis mediante Espectrofotometría Ultravioleta Visible a los extractos obtenidos para determinar la cantidad de hecogenina presente.

Análisis de flavonoides mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC). Se enviaron las muestras de 50 ml de jugo de fique previamente filtradas, decoloradas y pasterizadas al Laboratorio de Análisis Instrumental de la Universidad Nacional, sede Medellín, donde se analizó por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) utilizando como estándar la quercetina.

Las tres muestras analizadas pertenecen a la misma especie y solo se diferencian en el tiempo de autofermentación:

Muestra 1: 2 días de fermentación.

Muestra 2: 4 días de fermentación.

Muestra 3: 6 días de fermentación.

El análisis se llevó a cabo mediante el método de HPLC, propuesto por RUIZ POVEDA (2005) el cual se describe en el cuadro 6.

Cuadro 6: Método de cuantificación de flavonoides por HPLC aplicado.

CONDICIONES DEL EQUIPO, MÉTODO Y MUESTRA	
Equipo	Cromatógrafo líquido, HPLC, Agilent 1100
Muestra	Jugo de Fique
Inyección	Volumen: 50 ul Flujo: 1 ml/min Temperatura: 25°C Presión mínima: 0 bar Presión máxima: 400 bar
Detector UV	254 nm Referencia: 360 nm
Columna	ODS 250mm*4.6mm (5 micras)
Fase móvil	Metanol: ácido acético Gradiente: 70:30 durante 20 minutos 100:0 durante 25 minutos
Tiempo de corrida	25 min.
Estándar	Quercetina

Fuente: Universidad nacional de Colombia.

Se inyectó el estandar (quercetina), de la siguiente manera:

a: Inyección a 60 ppm.

b: Inyección a 160 ppm.

c: Inyección a 260 ppm.

Para cada concentración se hizo el reporte porcentual de las áreas, los tiempos de retención y la altura de pico y se leyó su espectro. Luego se inyectaron las muestras de jugo de fique; a cada una se le hizo el reporte porcentual de áreas, tiempos de retención, altura de los picos y se leyó su espectro.

5.2.5 Estabilización del jugo. Debido a que el jugo de fique presenta un proceso de auto fermentación a temperatura ambiente se hace necesario detener dicho proceso para poder almacenar el producto sin que se produzcan alteraciones en el mismo. Las muestras se dejaron fermentar durante 4 días y al cabo de este tiempo se procedió a procesarlas.

Este proceso se realizó aplicando una combinación de métodos que permitan detener la acción de enzimas y microorganismos que ocasionan la fermentación

del jugo de fique, para ello se tomaron diferentes muestras a las cuales se las sometió a diferentes procesos de la siguiente manera:

Muestra 1: 100 ml de jugo de fique sin ningún tratamiento (Testigo).

Muestra 2: 100 ml de jugo de fique al cual se le realizó:

- Pasterización lenta a una temperatura promedio de 65°C durante 30 minutos.
- Adición del conservante sorbato de potasio en una concentración de 1000 ppm.
- Envasado a temperatura ambiente.

Muestra 3: 100 ml de jugo de fique con los siguientes tratamientos:

- Filtración al vacío en papel filtro.
- Pasterización lenta a una temperatura promedio de 65°C durante 30 minutos.
- Adición del conservante sorbato de potasio en una concentración de 1000 ppm.
- Envasado a temperatura ambiente.
- Se realizó un seguimiento de las muestras durante un tiempo de 2 semanas.

Posteriormente se tomaron tres muestras de jugo de fique de 100 ml, se las filtró al vacío mediante papel filtro, y luego se les aplicaron los siguientes procedimientos:

Muestra 4: 100 ml de jugo de fique filtrado sin ningún tratamiento (Testigo).

Muestra 5: 100 ml de jugo de fique filtrado al que se le realizó:

- Pasterización lenta a 65°C por 30 minutos.
- Adición de conservante (sorbato de potasio en una concentración de 1000 ppm)
- Se enfrió y luego se llenó y tapó herméticamente en un franco ambar.

Muestra 6: 100 ml de jugo de fique filtrado al que se le realizó:

- Pasterización lenta a 65°C por 30 minutos.
- Adición de conservante (sorbato de potasio en una concentración de 1000 ppm)

- Se llenó y tapó en caliente herméticamente en un frasco ambar.

Se dejaron las muestras en reposo, a temperatura ambiente, durante seis meses, tiempo durante el cual se realizó un seguimiento mensual, hasta que se alcanzaron los seis meses de vida útil deseados.

5.2.6 Elaboración del biofungicida a partir del jugo de fique. Para elaborar el biofungicida se dejó que el jugo de fique fermentara durante cuatro días; al cabo de dicho tiempo se logró una buena sedimentación de la lama. Después se aplicaron los mismos procesos que se aplicaron en la muestra 6.

Se utilizaron 80 litros de jugo de fique, el cual se filtró al vacío. Luego, se sometió al proceso de pasteurización lenta mediante una marmita a vapor, se mantuvo la temperatura constante a 65°C durante los 30 minutos, con agitación constante del jugo de fique para que la transferencia de calor fuera similar en todos los puntos. Se adicionó el sorbato de potasio en la concentración estipulada anteriormente (1000 ppm); luego, se llenaron los envases plásticos con capacidad de 4 litros de manera inmediata y sin cerrar el flujo de vapor a la marmita para evitar el enfriamiento. Se tapó de manera inmediata herméticamente para que al enfriarse produzca el vacío en el espacio de cabeza, después de lo cual se almacenó el producto a temperatura ambiente.

5.2.7 Evaluación del biofungicida en campo abierto. En ésta etapa se probó el biofungicida obtenido mediante pruebas y aplicaciones a campo abierto sobre el cultivo de papa con el fin de determinar su actividad biocida y su nivel de acción frente a una de las enfermedades más relevantes que es la gota de la papa ocasionada por el hongo *Phytophthora Infestans*.

Se trabajó con un lote correspondiente a 1/8 de hectárea, ubicado en el municipio de El Tambo Nariño. Cabe mencionar que este lote no había sido utilizado para el desarrollo de este cultivo anteriormente sino que era utilizado desde unos 15 años atrás en la ganadería y montes nativos, lo cual nos asegura de que es una zona sin ningún tipo de contaminación química por agroquímicos.

Contando con el análisis de suelos respectivo, se realizó la adecuación del terreno. Se sembraron las semillas de papa de la variedad Diacol Capiro, la cual es la más susceptible a la gota y una de las más comerciales en la actualidad. La siembra se realizó de la forma tradicional. En este momento también se realizó la primera fertilización del suelo con el fertilizante 13-26-10-33.

Con el nacimiento de las plantas se realizó el retape del cultivo, también se delimitaron las zonas de los diferentes tratamientos.

La aplicación y evaluación del biofungicida en campo abierto así como los resultados obtenidos se realizaron bajo la asesoría de un Ingeniero Agrónomo.

Aplicación de los tratamientos. Cuando las plantas estaban expuestas al ambiente nuevamente después del retape se realizó la primera aplicación de la forma descrita en el diseño experimental.

Diseño experimental. Para los experimentos se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), en donde se evaluaron cinco tratamientos con tres repeticiones cada uno. El análisis de datos resultantes se realizó a través del programa virtual STATGRAPHICS CENTURION versión XV.

Cuadro 7: Tratamientos aplicados en la evaluación in situ

Tratamientos	Producto aplicado	Concentración Litros/Ha	Porcentaje de concentración v/v.
TA	Jugo de fique	15	3.75
TB	Jugo de fique	30	7.5
TC	Jugo de fique	45	11.25
TD	Manzate	Tradicional (2 cucharadas por bomba de 20 litros)	
TE	Testigo sin ninguna aplicación		

Fuente: Autor

Después de 18 días las plantas volvieron a surgir de la tierra; en ese momento se realizó el conteo del número de plantas por cada tratamiento, la primera evaluación de incidencia de la enfermedad, y la primera aplicación del biofungicida y manzate.

La variable respuesta es el porcentaje de incidencia de la enfermedad en las plantas de cada tratamiento, dado por la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de incidencia} = \frac{\text{Número de plantas afectadas}}{\text{Número total de plantas}} \cdot 10$$

6. RESULTADOS

6.1 PROPIEDADES FÍSICAS DEL JUGO DE FIQUE.

El jugo de fique obtenido mediante la molienda de las pencas de la planta (*Furcraea Gigantea*), presenta un olor fuerte a celulosa, es muy fluido, de color verde brillante y espumoso.

Se pudo notar su poder corrosivo y desengrasante ya que eliminó toda clase de grasa, oxido y suciedad del trapiche dejando una superficie totalmente limpia y brillante.

6.1.1 Densidad relativa. La densidad relativa promedio de la muestra de jugo de fique unas horas después de su extracción fue de 1.027 g/ml, determinada a 19°C de temperatura.

Pasados los cuatro días de auto fermentación las características del jugo presentan las siguientes variaciones:

Su olor se volvió más penetrante, su color verde más oscuro y presentó una separación de la lama (parte sólida) del liquido y se ubicó en la parte superior de los recipientes; la lama formó grumos de color verde de una textura muy suave; a medida que la auto fermentación continúa, esta lama sedimenta y se ubica en el fondo, quedando el sobrenadante de color verde claro en la parte superior del recipiente.

Al cabo de cuatro días, en los que se dejaron las muestras a temperatura ambiente, donde ocurrió el proceso de auto fermentación, la densidad relativa promedio del sobrenadante fue de 0.99 g/ml (medida a una temperatura de 19°C).

6.1.2 pH. El pH promedio registrado para las muestras de jugo de fique, sin sufrir ninguna auto fermentación, fue de 4.86 a 19.5°C. Al cabo de los cuatro días de auto fermentación el valor de pH medido a la misma temperatura fue de 4.23.

6.1.3 Punto de ebullición. Al ser sometida la muestra de 100 ml de jugo de fique a calentamiento ésta sufrió un incremento gradual de temperatura hasta que se volvió constante a los 93°C, la cual se considera la Temperatura de ebullición del jugo de fique a una presión ambiental de 575.27 mmHg. Mientras que para el agua de referencia el punto de ebullición fue a los 94.1°C a la misma presión.

6.2 ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR.

Los resultados obtenidos después de aplicar todas los ensayos cualitativos pertinentes se presentan en el cuadro 8, donde se observa que mediante estos ensayos realizados para determinar la presencia de alcaloides (Wagner y Mayer) taninos (Cloruro férrico y Vainillina) y esteroides (Lieberman Burchard y Rosenhein) no fue posible detectar la presencia de estos metabolitos secundarios en la muestra de jugo de fique analizada.

Del total de ensayos realizados solamente resultaron positivos el de Dragendorff para detectar alcaloides el de la espuma y la de Molish para detectar saponinas, lo que significa que en el jugo de fique hay presencia de alcaloides y saponinas.

Cuadro 8: Resultados de las pruebas cualitativas para metabolitos secundarios.

Metabolitos secundarios	Tipo de prueba	Resultado
Alcaloides	Dragendorff	(+++)
	Wagner	ND
	Mayer	ND
Saponinas	Espuma o agua caliente	(+++)
	Molish	(+++)
	Hemólisis	(+++)
Taninos	Cloruro férrico	ND
	Vainillina	ND
Flavonoides	Shinoda	ND
	Vapores de amoniaco	ND
Esteroides	Lieberman Burchard	ND
	Rosenhein	ND

Observaciones: (+++): Positivo ND: No detectado

Fuente: autor

Para las demás pruebas no se presentó ninguna reacción de las esperadas. Sin embargo, en la prueba de Shinoda se presentó una reacción exotérmica junto con la aparición de un precipitado blanco lo cual indica que hay una reacción con algún componente de la muestra, pero debido a que no es el tipo de reacción esperado (coloración rojiza, violeta o amarilla) se debe considerar resultado negativo (-) o no demuestra (ND).

6.3 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO.

6.3.1 Análisis de alcaloides mediante Cromatografía de Gases CG-FID. Del análisis del jugo de fique mediante CG-FID, realizado por la Universidad de Nariño en los Laboratorios Especializados se obtuvieron los resultados que se presentan en el cuadro 9.

Cuadro 9: Resultados del análisis de alcaloides en Extracto de fique por CG-FID.

Nº	Tr (min)	% Area	Ik Experimental	Possible compuesto	IK Teórico
1	5.850	1.0	1176	NI	
2	7.980	1.4	1251	NI	
3	8.708	2.3	1275	NI	
4	9.408	1.2	1298	NI	
5	10.316	1.2	1412	3 α -Hidroxy-6 β -acetixytrapano, 3 β -Hidroxy-6 β -acetoxxytrapano.	1409 1414
6	11.083	1.3	1424	3-Hidroxyacetoxxytrapano	1420
7	11.558	9.7	1431	6-Hidroxyacetoxxytrapano	1438
8	12.649	1.4	1447	NI	
9	12.791	1.1	1449	NI	
10	14.932	1.7	1480	NI	
11	17.141	1.8	1614	NI	
12	19.257	1.6	1648	NI	
13	19.799	6.1	1656	NI	
14	20.965	1.0	1675	3-Hidroxy-6-(2-metilbutiriloxxytrapano)	1675
15	21.249	1.7	1680	3-Hidroxy-6-Metilbutiriloxxytrapano	1682
16	23.115	1.3	1810	3 α -Tigloyloxy-6 β .Acetoxxytrapano.	1815
17	27.832	56.2	1890	3 α -Tigloyloxy-6-Propioniloxxytrapano.	1901

IK: Índice de Kovalts Tr: Tiempo de Retención NI: No Identificado

Fuente: laboratorios especializados Universidad de Nariño

El porcentaje de área representa la cantidad de sustancia encontrada, por lo tanto como se observa en el cuadro 9 el alcaloide que se encuentra en mayor cantidad respecto a los demás es el 3 α -Tigloyloxy-6-Propioniloxxytrapano que mostró un área del 56.2%. Sin embargo no es posible determinar la cantidad exacta de este alcaloide porque no se realizó el análisis con el estándar.

Análisis de saponinas mediante CCD y Espectrofotometria UV- VIS. En el resumen de la investigación realizada en la Universidad Nacional se reporta los siguientes resultados de Rf donde se identificaron las sapogeninas hecogenina y tigogenina (Segura R, 2004).

Cuadro 10: Rf de saponinas crudas recristalizadas, presentes en el jugo de fique.

Banda N°	Color a la luz visible	Identidad	Rf
1	Amarillo que cambia a violeta	Tigogenina	0.74
2	Amarillo que cambia a naranja	Hecogenina	0.51
3	Marrón claro	Desconocido	0.42
4	Amarillo verdoso	Desconocido	0.35

Fuente: Segura R, 2004.

En la cuantificación de saponinas mediante Espectrofotometría Ultravioleta Visible (UV VIS), se encontró que el contenido de la saponina hecogenina en el jugo de fique es del 0,7%, lo que significa que en el jugo de fique sin hidrolizar se encuentra un porcentaje estimado igual o superior al 0.7% de saponinas ya que además de las saponinas precursoras de la hecogenina se encuentran las precursoras de la tigogenina y posiblemente otras saponinas aún no identificadas, este conjunto de saponinas le pueden dar propiedades biocidas al jugo de fique.

Análisis de flavonoides mediante Cromatografía Líquida de alta Eficiencia (HPLC). El laboratorio de la Universidad Nacional realizó el análisis con el estándar de quercetina, la cual se analizó a tres concentraciones 60, 160 y 260 ppm para realizar la cuantificación de ésta en la muestra de jugo de fique. Como se puede observar en el cuadro 11 la quercetina presentó un pico en los siguientes tiempos de retención.

Cuadro 11: Tiempos de retención de la quercetina.

<i>Estándar</i>	<i>Tiempo de retención (min)</i>	<i>Altura</i>
60 ppm	2.59	20.1880
160 ppm	2.55	537.55975
260 ppm	2.61	688.384

Fuente: Universidad Nacional de Colombia

Cuadro 12: Datos de reporte porcentual de áreas para estándar y muestra

	Nº Pico correspondiente al estándar	Tiempo de retención (min.)	Ancho	Área corregida mUA*s	Altura de pico mUA	Porcentaje de Área, %
Estandar 60ppm	2	2.594	0.4430	686.94550	20.18804	75.0360
Estandar 160ppm	1	2.555	0.2837	1.19673e4	537.55975	94.0815
Estandar 260ppm	2	*2.606	0.3704	2.05553e4	688.38434	94.9952
Muestra 1	Nº Picos encontrados	TR	Ancho	Area	Altura pico	% área
	1	2.475	0.1463	1.69714e4	1496.21753	46.6013
	2	3.423	0.1019	1076.36523	157.06821	2.9556
	3	3.526	0.2547	3428.02954	171.90089	9.4129
	4	6.500	1.2801	9970.58398	96.92921	27.3780
	5	8.821	1.9322	4971.87939	33.25561	13.6522
Muestra 2	1	2.435	0.0986	8988.40234	1300.43237	30.9356
	*2	*2.639	0.2421	4385.72266	226.34375	15.0944
	3	2.995	0.2377	3746.89941	195.40860	12.8958
	4	3.434	0.2252	5477.22754	302.61127	18.8511
	5	6.489	1.1321	4317.42529	46.46378	14.8594
	6	8.389	1.4249	2139.55884	18.42262	7.3638
Muestra 3	1	2.416	0.0951	8584.61621	1299.53442	40.4176
	*2	2.638	0.0986	1414.56152	199.70428	6.6600
	3	2.768	0.3066	3876.97534	177.64874	18.2534
	4	3.172	0.1808	2040.30286	144.47559	9.6060
	5	3.388	0.1185	997.23157	113.52381	4.6951
	6	3.642	0.2197	3079.31421	179.85439	14.4979
	7	6.509	0.4533	738.09906	20.15413	3.4751
	8	8.635	0.9233	508.67841	7.10441	2.3949

*Picos con tiempos de retención similares al estándar.

Fuente: Laboratorios Intrumentales, Universidad Nacional de Colombia.

Nota: Las muestras solo difieren en el tiempo de autofermentación.

La altura de uno de los picos fue aumentando a medida que se aumentó la concentración del estándar y los demás picos permanecieron iguales. De ahí se puede concluir que este pico corresponde a la quercetina, pero en la muestra de jugo de fique no se encontró estos picos y aunque habían picos con tiempos de retención muy cercanos se comprobó su diferencia con el espectro UV donde para la muestra presentaba dos picos y para el estándar presenta tres picos, lo que

descarta la presencia de quercetina en la muestra, al ser analizada por este método de cuantificación.

Los picos y espectros resultantes que más se asemejan se pueden observar en el anexo 3: HPLC para el estándar a 260 ppm y para las muestras en los anexos 6 y 7. En donde podemos observar Tiempos de Retención muy cercanos a los del estándar, de 2.639 minutos y 2.638 minutos.

En el anexo 8, podemos observar los picos y TR para la muestra con adición de estándar para la cual se observa un nuevo pico adicional con lo que se descarta que el jugo de fique contenga el flavonoide quercetina.

6.4 ESTABILIZACIÓN DEL JUGO DE FIQUE.

A las tres primeras muestras de 100 ml de jugo de fique se les aplicaron los tratamientos mencionados en la metodología. Todas se dejaron en reposo a temperatura ambiente por un tiempo de dos semanas, en donde se realizó seguimiento y registro de los cambios presentados en cada muestra.

Aplicando filtración al vacío, Pasteurización lenta y con adición de sorbato de potasio a 1000 ppm se logró detener la autofermentación del jugo de fique de la muestra 3.

Los resultados de los cambios que presentaron las tres muestras se presentan en el cuadro 13.

Según los resultados presentados en el cuadro 13 se obtuvo que es necesario filtrar el jugo de fique para alcanzar su conservación durante dos semanas.

De las nuevas tres muestras a las cuales se les aplicaron los tratamientos mencionados en la metodología con los que se buscó alcanzar 6 meses de vida útil del producto, sólo fue posible alcanzar ese tiempo de duración aplicando filtración al vacío, pasterización lenta, adición de conservante sorbato de potasio a 1000 ppm, pero realizando el envasado del producto en caliente, para evitar la recontaminación.

Cuadro 13: Primeros resultados del seguimiento de vida útil del biofungicida.

Muestra	Tiempo de reposo (semanas)	Características	Calificación
1	1	Color: marrón oscuro Olor: desagradable. Presentaba una especie de nata verde en la parte superior	Estado inicial de descomposición No apto
2	1	Se dividió en dos partes, el sobrenadante el cual conservaba sus características de: Olor: característico del jugo de fique Color: verde oscuro. El sedimento es duro, difícil de revolver y forma gránulos muy estables. Color: grisáceo.	Sobrenadante: Apto Sedimento: No apto
3	1	Conserva sus características de olor y fluidez, su color se torna un poco amarillento. Esta es la muestra en mejores condiciones.	Apto
4	2	Color oscuro. Olor: muy desagradable. Presenta una total putrefacción.	No apto
5	2	El sedimento se encuentra en putrefacción lo que ha afectado las características del sobrenadante.	No apto
6	2	Color: amarillo. Olor: característico del jugo de fique. Fluidez: normal.	Apto.

Fuente: Autor

Cuadro 14: Resultados del seguimiento de vida útil del biofungicida durante 6 meses.

Muestra	Tiempo de reposo (meses)	Características	Calificación
4	0	Color: verde Olor: característico Fluidez: normal	Apto
5	0		
6	0		
4	1	Color amarillento, Olor: un poco más fuerte, Fluidez: un poco menor que al inicio.	Apto
5	1	Color: amarillento, Olor: característico, Fluidez: normal.	Apto
6	1	Color: amarillento, Olor: característico, Fluidez: normal.	Apto
4	2	Color: marrón, Olor: desagradable, Fluidez: disminuyó.	No apto
5	2	Color: amarillo oscuro, Olor: fuerte, Fluidez: menor.	No apto
6	2	Color: amarillento, Olor: característico, Fluidez: normal.	Apto
4	4	Color: marrón oscuro, Olor: desagradable, Fluidez: menor Presencia de nata blanca en la superficie.	No apto
5	4	Color: marrón, Olor: un poco desagradable, Fluidez: menor.	No apto
6	4	Color: amarillo, Olor: característico, Fluidez: normal.	Apto
4	6	Color: negro, Olor: a putrefacción, Fluidez: muy baja, Se encuentra en descomposición total.	No apto
5	6	Color: marrón, Olor: desagradable, Poca fluidez Presencia de nata.	No apto
6	6	Color amarillo, Olor normal, Fluidez normal.	Apto

Fuente: autor

De acuerdo a los resultados del cuadro 14, la muestra número 6 es la única capaz de conservar las características organolépticas iniciales, sólo con una variación en el color de verde a amarillo, la cual no significa gran importancia. Con los anteriores resultados se puede verificar que se debe llenar y tapar el producto en caliente con lo que es posible evitar la recontaminación del mismo por acción de la temperatura, como no sucedió con la muestra número 2, la cual tenía los mismos procesos de filtración, pasteurización y adición de conservante, pero en el momento de su enfriamiento al estar expuesta al ambiente se presentó una recontaminación del producto causando su descomposición prematura.

6.5 OBTENCIÓN DEL BIOFUNGICIDA A PARTIR DEL JUGO DE FIQUE.

Después de aplicar los procedimientos se obtuvieron 20 envases de biofungicida con capacidad de 4 litros cada uno (figura 7).



Figura 7: Producto envasado y almacenado.

De esta manera se obtuvo el biofungicida de larga vida útil para su posterior aplicación en el cultivo.

6.6 EVALUACIÓN DEL BIOFUNGICIDA *in situ*.

El cultivo presentó un desarrollo normal, desde su nacimiento (figuras 8 a 15).



Figura 8: Muestreo para análisis de suelos



Figura 9: Aplicación de biofungicida en plantas recién nacidas



Figura 10: Segunda fertilización con 10-20-20

Durante el primer mes y medio no se presentó ningún brote de la enfermedad. Pero las condiciones climatológicas empeoraron.



Figura 11: Plantas del TA, sin ninguna incidencia de la enfermedad.



Figura 12: Plantas del TB, sin ninguna incidencia de la enfermedad



Figura 13: Plantas del TC, sin ninguna incidencia de la enfermedad



Figura 14: Plantas del TD, sin ninguna incidencia de la enfermedad



Figura 15: Plantas del TE, sin ninguna incidencia de la enfermedad

El 23 de febrero de 2008, se realizó la evaluación pertinente y se encontraron los primeros brotes de la enfermedad (cuadro 15).

Se realizó el tratamiento de los siguientes datos mediante la ayuda del software estadístico STATGRAPHICS CENTURION XV, y se obtuvo lo siguiente:

La ANOVA Simple para los PORCENTAJES DE INCIDENCIA según los TRATAMIENTOS (REPETICIONES).

- Variable dependiente: PORCENTAJES DE INCIDENCIA
- Factor: TRATAMIENTOS
- Selección de la Variable: REPETICIONES

Cuadro 15: Resultados de porcentajes de incidencia de la evaluación numero 5.

Fecha (23-02-08)	Edad: 5 semanas		
Tratamientos	Repeticiones		
	1	2	3
TA	6,7	5,4	7,9
TB	8.2	6.5	6.7
TC	7.9	6.3	6.7
TD	8	5.4	6.5
TE	16	15	18

Fuente: autor

Cuadro 16: ANOVA para PORCENTAJE DE INCIDENCIA según TRATAMIENTOS.

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	216,609	4	54,1522	37,94	0,0000
Within groups	14,2713	10	1,42713		
Total (Corr.)	230,88	14			

Fuente: autor

De acuerdo al cuadro 16 se encuentra que P-Valor del test F es inferior a 0,05, lo que significa que hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los porcentajes de incidencia entre los tratamientos con un nivel de confianza del 95,0%. Es decir hay diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos.

Entonces para verificar cual de las medias es la que marca la diferencia se analizó el la tabla de Rangos Múltiples:

Cuadro 17: Contraste de Rangos Múltiples para PORCENTAJE DE INCIDENCIA según TRATAMIENTOS.

Method: 95,0 percent LSD

TRATAMIENTOS	Count	Mean	Homogeneous Groups
TD	3	6,63	X
TA	3	6,65333	X
TC	3	6,96333	X
TB	3	7,13333	X
TE	3	16,3333	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
TA - TB		-0,48	2,17335
TA - TC		-0,31	2,17335
TA - TD		0,0233333	2,17335
TA - TE	*	-9,68	2,17335
TB - TC		0,17	2,17335
TB - TD		0,503333	2,17335
TB - TE	*	-9,2	2,17335
TC - TD		0,333333	2,17335
TC - TE	*	-9,37	2,17335
TD - TE	*	-9,70333	2,17335

* indica una diferencia significativa.

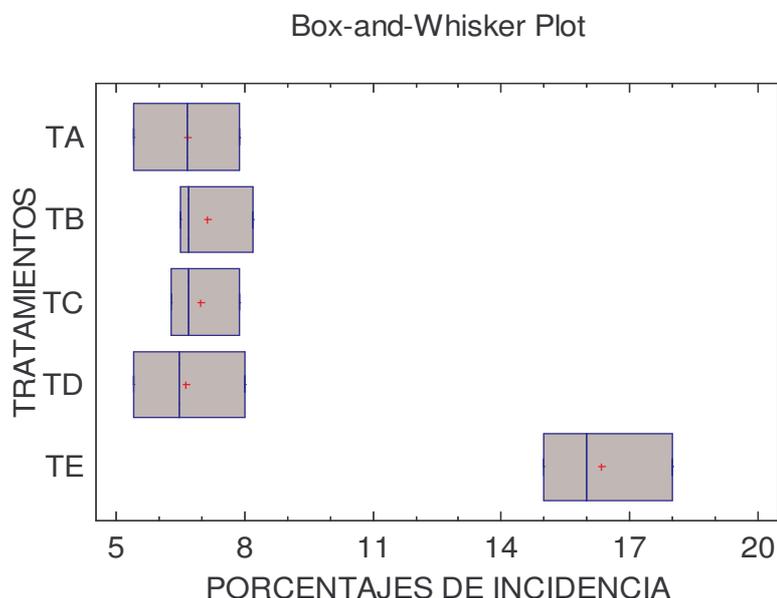
Fuente: autor

Este cuadro aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras. El asterisco que se encuentra al lado de los 4 pares, indica que éstos muestran diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza 95,0%. En la parte superior de la página, se identifican 2 grupos homogéneos según la alineación del signo X en la columna. Dentro de cada columna, los niveles que tienen signo X forman un grupo de medias entre las cuales no hay diferencias estadísticamente significativas. El método actualmente utilizado para discernir entre las medias es el procedimiento de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD).

Con este método, hay un 5,0% de riesgo de considerar cada par de medias como significativamente diferentes cuando la diferencia real es igual a 0.

De acuerdo con los anteriores resultados se encontró que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos dada por el TE (testigo); es decir los resultados de incidencia del testigo fueron diferentes en comparación con los demás tratamientos.

Figura 16: Grafico de Cajas y Bigotes para porcentaje de incidencia según tratamientos.



En el grafico de cajas y bigotes (Figura 16) dado por Statgraphics, se puede verificar que el TE, es el tratamiento que presenta los más altos porcentajes de incidencia de la enfermedad, mientras que los resultados dados por los demás tratamientos son mucho más bajos y muy similares entre sí. Con lo anterior se evidencia que los tratamientos TA, TB y TC, que corresponden al biofungicida presentan una eficacia similar estadísticamente en comparación con el TD que es el tratamiento tradicional con manzate (Figuras 17 a 21).



Figura 17: Planta con un brote de gota del TA.



Figura 18: Planta sana del TB.



Figura 19: Planta sana del TC.



Figura 20: Planta sana del TD.



Figura 21: Planta afectado por la gota del T.

Cuadro 18: Resultados de porcentajes de incidencia de la evaluación numero 6.

Fecha: (01-03-08)	Edad: 6 semanas		
Tratamientos	Repeticiones		
	1	2	3
TA	12	11	10,5
TB	9,6	12	11
TC	11,8	9,3	11
TD	12	11	10,4
TE	43	49	50

Fuente: autor

Cuadro 19: ANOVA para PORCENTAJE DE INCIDENCIA según TRATAMIENTOS

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	3174,53	4	793,632	212,73	0,0000
Within groups	37,3067	10	3,73067		
Total (Corr.)	3211,84	14			

Fuente: autor

De acuerdo a los resultados del cuadro 19, se encontró que el P- Valor es menor a 0.05, es decir que existe diferencia estadísticamente significativa en los resultados obtenidos entre los diferentes tratamientos para un nivel de confianza del 95,0%.

De acuerdo al test de Rangos múltiples que se muestra a continuación se encontró que los resultados del tratamiento TE (testigo) son los que presentan diferencia estadísticamente significativa.

Cuadro 20: Contraste de rangos múltiples para PORCENTAJE DE INCIDENCIA según TRATAMIENTOS

Method: 95,0 percent LSD

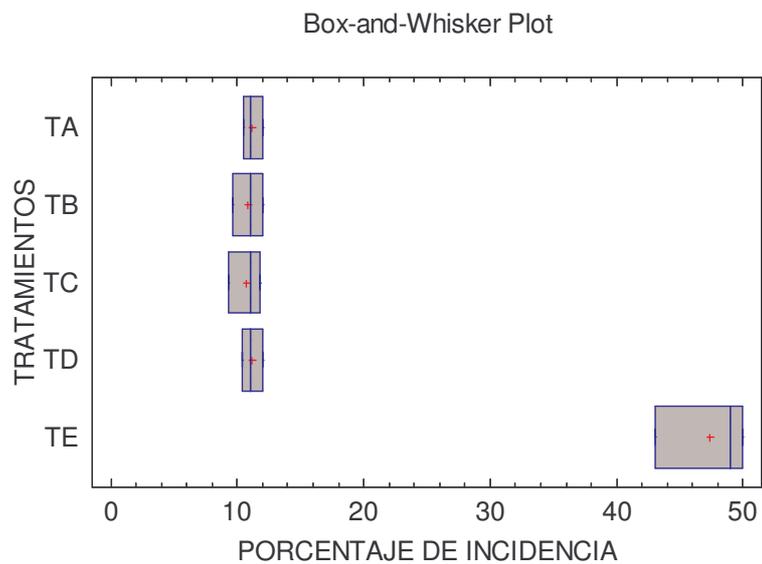
TRATAMIENTOS	Count	Mean	Homogeneous Groups
TC	3	10,7	X
TB	3	10,8667	X
TD	3	11,1333	X
TA	3	11,1667	X
TE	3	47,3333	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
TA - TB		0,3	3,51391
TA - TC		0,466667	3,51391
TA - TD		0,0333333	3,51391
TA - TE	*	-36,1667	3,51391
TB - TC		0,166667	3,51391
TB - TD		-0,266667	3,51391
TB - TE	*	-36,4667	3,51391
TC - TD		-0,433333	3,51391
TC - TE	*	-36,6333	3,51391
TD - TE	*	-36,2	3,51391

* indica una diferencia significativa.

Fuente: autor

Figura 22: Grafico de Cajas y Bigotes para PORCENTAJE DE INCIDENCIA según TRATAMIENTOS



Fuente: autor

Cuadro 21: Resultados de porcentajes de incidencia de la evaluación numero 7.

Fecha: (08-03-08)	Edad: 7 semanas		
Tratamientos	Repeticiones		
	1	2	3
TA	16	14	15,8
TB	14	13	12
TC	14,5	12	13
TD	13	11	14,3
TE	68	72	75

Fuente: autor

Cuadro 22: ANOVA para PORCENTAJE DE INCIDENCIA según TRATAMIENTOS

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	8118,14	4	2029,54	537,10	0,0000
Within groups	37,7867	10	3,77867		
Total (Corr.)	8155,93	14			

Fuente: Autor

Para estos resultados el P-Valor es menor a 0.05, es decir se ha encontrado una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos.

A continuación se presenta el contraste de rangos múltiples para identificar cual de los tratamientos es el que presenta la diferencia significativa.

En los resultados del contraste de rangos múltiples que se presenta a en el cuadro 23, se encontró que el TE (testigo), es el tratamiento que presenta la diferencia significativa en cuanto a los porcentajes de incidencia de la enfermedad, mientras que el resto de tratamientos tanto del biofungicida como el tratamiento tradicional con *manzate* se han comportado de igual manera.

Cuadro 23: Contraste de rangos múltiples para PORCENTAJE DE INCIDENCIA según TRATAMIENTOS

Method: 95,0 percent LSD

TRATAMIENTOS	Count	Mean	Homogeneous Groups
TD	3	12,7667	X
TB	3	13,0	X
TC	3	13,1667	X
TA	3	15,2667	X
TE	3	71,6667	X

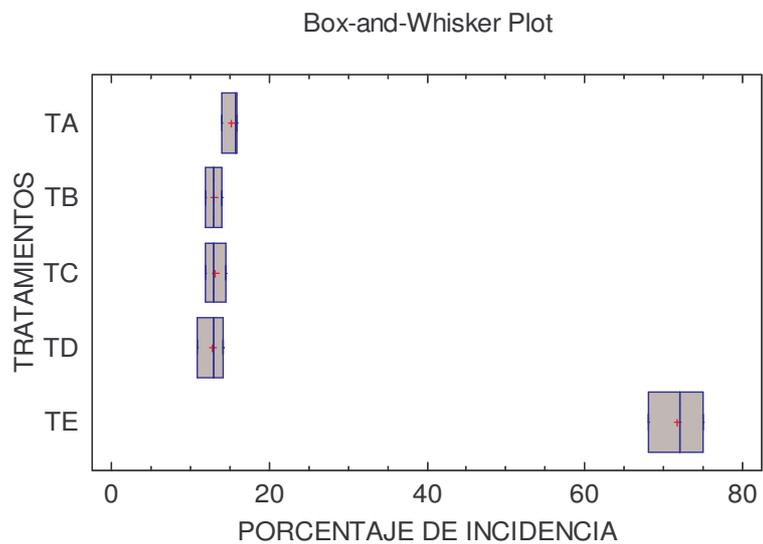
Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
TA - TB		2,26667	3,53645
TA - TC		2,1	3,53645
TA - TD		2,5	3,53645
TA - TE	*	-56,4	3,53645
TB - TC		-0,166667	3,53645
TB - TD		0,233333	3,53645
TB - TE	*	-58,6667	3,53645
TC - TD		0,4	3,53645
TC - TE	*	-58,5	3,53645
TD - TE	*	-58,9	3,53645

* indica una diferencia significativa.

Fuente: autor

En el gráfico de cajas y bigotes (Figura 23) se puede verificar que los resultados de los tratamientos con el biofungicida para las tres concentraciones aplicadas y el tratamiento tradicional son similares y presentan porcentajes de incidencia bajos, mientras que el tratamiento testigo TE, está muy lejos de parecerse presentando los porcentajes de incidencia más altos, los cuales ya han superado el 50%.

Figura 23: Grafico de Cajas y Bigotes para PORCENTAJE DE INCIDENCIA según TRATAMIENTOS



Fuente: autor

Cuadro 24: Resultados de porcentajes de incidencia de la evaluación numero 8.

Fecha: (15-03-08)	Edad: 8 semanas		
Tratamientos	Repeticiones		
	1	2	3
TA	21,3	20	19,7
TB	19	21	19
TC	19,7	17	19
TD	17	18	19,5
TE	93	97	94

Fuente: autor

Cuadro 25: ANOVA para PORCENTAJES DE INCIDENCIA según TRATAMIENTOS

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	13682,6	4	3420,66	1716,17	0,0000
Within groups	19,9319	10	1,99319		
Total (Corr.)	13702,6	14			

Fuente: Autor

Se encontró un P-Valor inferior a 0.05, es decir existe una diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos.

Cuadro 26: Contraste Múltiple de Rango para PORCENTAJE DE INCIDENCIA según TRATAMIENTOS

Method: 95,0 percent LSD

TRATAMIENTOS	Count	Mean	Homogeneous Groups
TD	3	18,1667	X
TC	3	18,5667	X
TB	3	19,6667	X
TA	3	20,3433	X
TE	3	94,6667	X

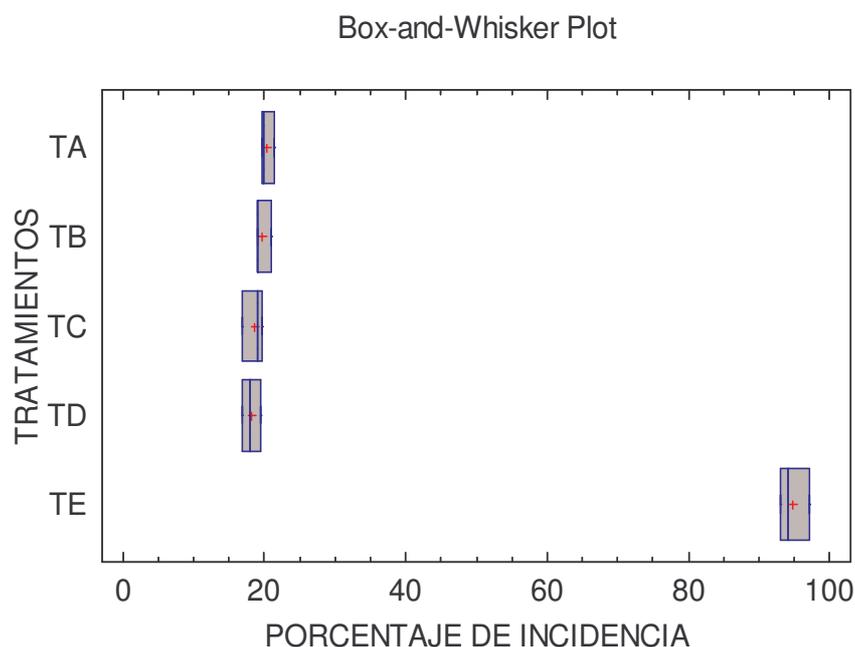
Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
TA - TB		0,676667	2,56846
TA - TC		1,77667	2,56846
TA - TD		2,17667	2,56846
TA - TE	*	-74,3233	2,56846
TB - TC		1,1	2,56846
TB - TD		1,5	2,56846
TB - TE	*	-75,0	2,56846
TC - TD		0,4	2,56846
TC - TE	*	-76,1	2,56846
TD - TE	*	-76,5	2,56846

* indica una diferencia significativa.

Fuente: Autor

Como resultado de la comparación de medias en el test de rangos múltiples (cuadro 26) se encontró que el TE, presenta resultados estadísticamente diferentes a los de los demás tratamientos, mientras que en estos no hay diferencia estadística.

Figura 24: Grafico de Cajas y Bigotes para PORCENTAJE DE INCIDENCIA según TRATAMIENTOS



Fuente: autor

Según el grafico de Cajas y Bigotes (Figura 24) los resultados de porcentaje de incidencia del TE, se alejan cada vez mas de los resultados de los demás tratamientos, tanto que en el TE los porcentajes de incidencia son muy cercanos al 100%, es decir que la enfermedad ha avanzado progresivamente sin control, mientras que el biofungicida y el tratamiento tradicional han sido capaces de frenar el desarrollo de la enfermedad en gran manera.



Figura 25: Hojas afectadas por gota del TA.



Figura 26: Hojas afectadas por gota del TB.



Figura 27: Primera infección por gota del TC.



Figura 28: Primera infección por gota del TD.



Figura 29: Planta totalmente afectada por gota del TE.

Cuadro 27: Resultados de porcentajes de incidencia de la evaluación numero 9.

Fecha: (22-03-08)	Edad: 9 semanas		
Tratamientos	Repeticiones		
	1	2	3
TA	24	26	26,3
TB	23	22	25
TC	21,1	21	24
TD	23	20	22,1
TE	100	100	100

Fuente: autor

Cuadro 28: ANOVA para PORCENTAJE DE INCIDENCIA según TRATAMIENTOS

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	14209,2	4	3552,31	1936,92	0,0000
Within groups	18,34	10	1,834		
Total (Corr.)	14227,6	14			

Fuente: autor

De acuerdo al P-Valor menor a 0.05 se demuestra que existe diferencia significativa entre los tratamientos.

Para este caso según el contraste de rangos múltiples (cuadro 29) se encontró que existe una diferencia significativa del TE en comparación con todos los tratamientos, pero también existe diferencia estadísticamente significativa entre la media del tratamiento TA con respecto a TC y TD, lo que significa que el TA correspondiente al tratamiento con la menor concentración del biofungicida esta presentando un nivel de protección diferente.

En el grafico de cajas y bigotes (figura 30) se puede observar que el TE, alcanzó el 100% de incidencia de la enfermedad, es decir se perdió el cultivo de este tratamiento, y que los porcentajes de incidencia de la enfermedad en el TA presentan una diferencia significativa en comparación con los tratamientos TC y TD, debido a que los porcentajes de incidencia han incrementado considerablemente.

Cuadro 29: Contraste Múltiple de Rango para PORCENTAJE DE INCIDENCIA según TRATAMIENTOS

Method: 95,0 percent LSD

TRATAMIENTOS	Count	Mean	Homogeneous Groups
TD	3	21,7	X
TC	3	22,0333	X
TB	3	23,3333	XX
TA	3	25,4333	X
TE	3	100,0	X

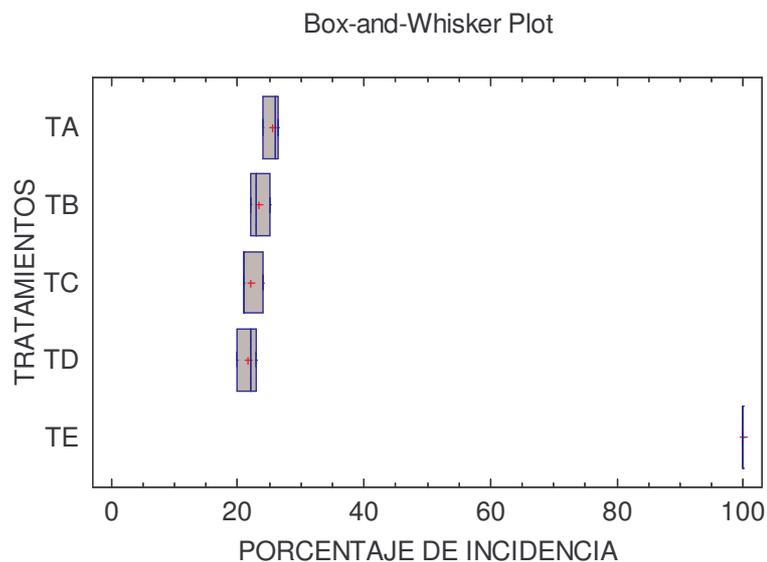
Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
TA - TB		2,1	2,46375
TA - TC	*	3,4	2,46375
TA - TD	*	3,73333	2,46375
TA - TE	*	-74,5667	2,46375
TB - TC		1,3	2,46375
TB - TD		1,63333	2,46375
TB - TE	*	-76,6667	2,46375
TC - TD		0,333333	2,46375
TC - TE	*	-77,9667	2,46375
TD - TE	*	-78,3	2,46375

* indica una diferencia significativa.

Fuente: Autor

Lo anterior significa que la concentración utilizada en el TA de 15 litros de biofungicida por Hectárea de cultivo se volvió menos eficiente frente a la prevención de la enfermedad en comparación con la concentración de 45 litros de biofungicida por hectárea aplicados en el tratamiento TC y frente al manzate del tratamiento TD.

Figura 30: Grafico de Cajas y Bigotes para PORCENTAJE DE INCIDENCIA según TRATAMIENTOS



Fuente: autor

Cuadro 30: Resultados de porcentajes de incidencia de la evaluación numero 10.

Fecha: (29 -03-08)	Edad: 10 semanas		
Tratamientos	Repeticiones		
	1	2	3
TA	36	38	36,8
TB	33	34	37
TC	31,6	33	36
TD	33	32	32,5
TE	No se tuvo en cuenta		

Fuente: autor

Debido a que en el testigo TE todas las plantas murieron, se continuó con la evaluación de los tratamientos restantes sin tener en cuenta el TE.

Cuadro 31: ANOVA para PORCENTAJES DE INCIDENCIA según TRATAMIENTOS

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	32,5492	3	10,8497	4,08	0,0498
Within groups	21,3	8	2,6625		
Total (Corr.)	53,8492	11			

Fuente: autor

Al comparar los resultados entre los tratamientos sin tener en cuenta el testigo, en el cuadro 31 se encontró un P-Valor de 0.0498 que sigue siendo inferior a 0.05, lo que significa que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de cada tratamiento.

Cuadro 32: Contraste Múltiple de Rango para PORCENTAJE DE INCIDENCIA según TRATAMIENTOS

Method: 95,0 percent LSD

TRATAMIENTOS	Count	Mean	Homogeneous Groups
TD	3	32,5	X
TC	3	33,5333	X
TB	3	34,6667	XX
TA	3	36,9333	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
TA - TB		2,26667	3,07228
TA - TC	*	3,4	3,07228
TA - TD	*	4,43333	3,07228
TB - TC		1,13333	3,07228
TB - TD		2,16667	3,07228
TC - TD		1,03333	3,07228

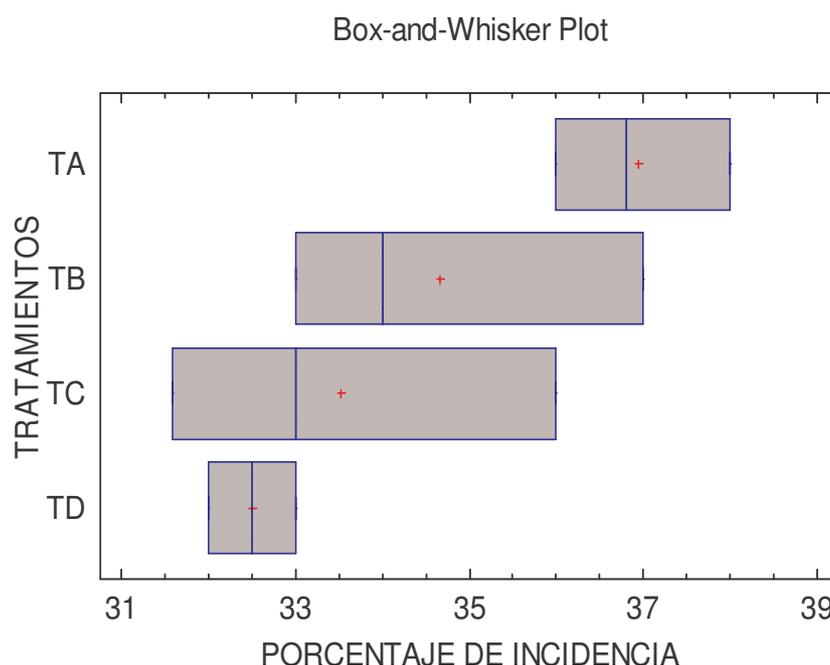
* indica una diferencia significativa.

Fuente: autor

En el test de rangos múltiples se encontró que existe diferencia significativa entre las medias del TA respecto a TC y TD. Es decir que el tratamiento con la menor concentración del biofungicida se comportó de manera diferente al tratamiento con la más alta concentración de biofungicida y al tradicional con manzate.

En la grafica de cajas y Bigotes (Figura 31) se puede notar que el TA muestra porcentajes de incidencia más altos que el TC y TD, pero presenta una similitud con los porcentajes de incidencia del TB, es decir que el nivel de eficacia y protección de TA frente a la enfermedad ha disminuido de manera considerable. De esta manera se obtiene que el tratamiento TC con una concentración de 45 litros de biofungicida por hectárea es el más apropiado para prevenir la gota y que sus porcentajes de incidencia de la enfermedad son comparables con los que presenta el TD donde se aplicó manzate.

Figura 31: Grafico de Cajas y Bigotes para PORCENTAJE DE INCIDENCIA según TRATAMIENTOS



Fuente: autor

Cuadro 33: Resultados de porcentajes de severidad de la evaluación numero 10.

Fecha: (05-04-08)	Edad: 11 semanas		
Tratamientos	Repeticiones		
	1	2	3
TA	54,7	53	55,3
TB	52	51	49
TC	43,4	51	48
TD	49	50	46,8
TE			

Fuente: Autor

Cuadro 34: ANOVA para PORCENTAJES DE INCIDENCIA según TRATAMIENTOS

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	81,7029	3	27,2343	5,17	0,0282
Within groups	42,1586	8	5,26983		
Total (Corr.)	123,861	11			

Fuente: Autor

Se encontró un P-Valor de 0.0282, es decir que existe una diferencia significativa entre los tratamientos.

Cuadro 35: Contraste Múltiple de Rango para PORCENTAJES DE INCIDENCIA según TRATAMIENTOS

Method: 95,0 percent LSD

TRATAMIENTOS	Count	Mean	Homogeneous Groups
TC	3	47,4667	X
TD	3	48,6	X
TB	3	50,6667	XX
TA	3	54,3233	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
TA - TB		3,65667	4,32229
TA - TC	*	6,85667	4,32229
TA - TD	*	5,72333	4,32229
TB - TC		3,2	4,32229
TB - TD		2,06667	4,32229
TC - TD		-1,13333	4,32229

* indica una diferencia significativa.

Fuente: Autor

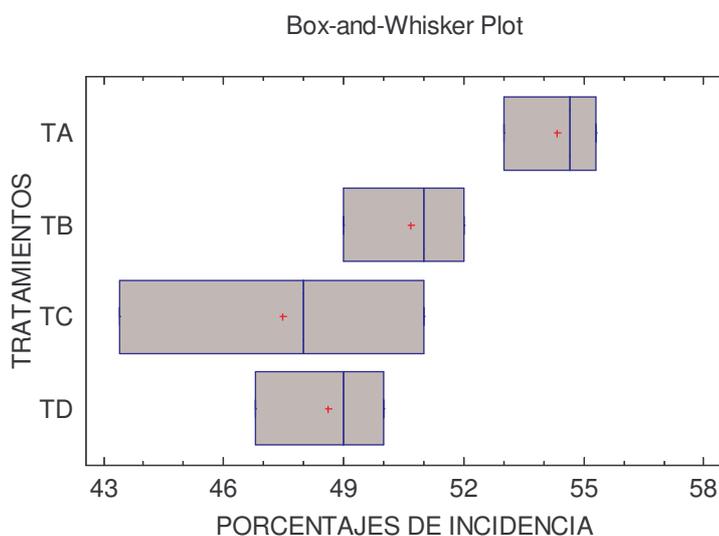
Al realizar la comparación de las medias entre los tratamientos se encontró diferencia significativa entre los porcentajes de incidencia de TA con respecto a TC y TD, pero no hay diferencia entre TA y TB.

En la grafica de cajas y bigotes (Figura 32) se encontró que los porcentajes de incidencia del TA (tratamiento con biofungicida a 3.75% de concentración), son más altos que los de los demás tratamientos; incluso la media es del 54.32%, lo que significa que este tratamiento se puede considerar como ineficiente en el control de la enfermedad.

Los tratamientos más eficientes frente al control de la enfermedad, son los TC (biofungicida a una concentración de 11.25%) y TD (tradicional con manzate), ya que presentan los menores porcentajes de incidencia y se puede decir que son igualmente efectivos ya que no hay diferencia estadísticamente significativa entre ellos.

El TB (biofungicida a una concentración de 7.5%) presenta una eficacia media, es decir no se lo considera ineficiente, pero su nivel de protección y control de la enfermedad es menor a los tratamientos TC y TD. Por lo anterior se recomienda aplicar esta concentración cuando el cultivo se esté desarrollando en condiciones normales de lluvias o para el caso de variedades de papa que son tolerantes a la gota como la variedad parda suprema.

Figura 32: Grafico de Cajas y Bigotes para PORCENTAJE DE INCIDENCIA según TRATAMIENTOS



Fuente: autor

A continuación se presenta una grafica que muestra la evolución de la enfermedad (gota del la papa) en el cultivo, se representa la edad del cultivo en semanas frente a los promedio de porcentajes de incidencia de la gota para cada tratamiento (Anexo 23).

Cuadro 36: Edad del cultivo frente al promedio de porcentajes de incidencia de gota.

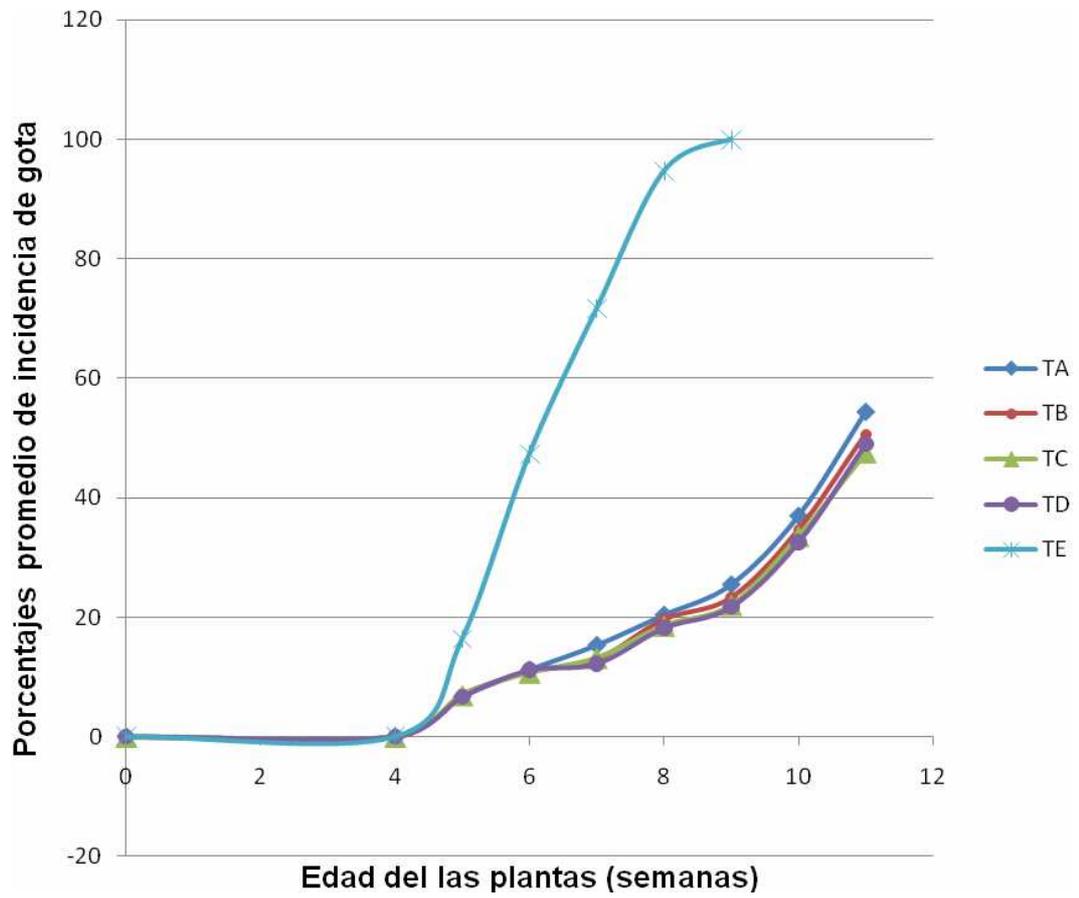
Tiempo (semanas)	TA	TB	TC	TD	TE
0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	6,65	7,13	6,96	6,63	16,33
6	11,17	10,87	10,7	11,13	47,33
7	15,27	13	13,17	12,17	71,67
8	20,34	19,67	18,57	18,17	94,67
9	25,43	23,33	22,03	21,7	100
10	36,93	34,67	33,53	32,5	-
11	54,32	50,67	47,47	48,93	-

Fuente: autor

En la siguiente grafica se observa que el TE (testigo) se diferencia del resto de tratamientos de tal manera que logra alcanzar el 100% de incidencia de gota en la novena semana mientras que los tratamientos con el biofungicida y con manzate presentan un comportamiento similar entre si con lo que se demostró que el biofungicida de jugo de fique es apto para prevenir el desarrollo del hongo *Phytophthora Infestans*.

Además es posible notar que los tratamiento TC (biofungicida al 11.25%) y TD (Fungicida manzate) son los más similares con lo que se demuestra que el jugo de fique es más eficiente si se aplica en concentraciones elevadas (11.25%), de esta forma es posible alcanzar un nivel de protección comparable al otorgado por el manzate.

Figura 32: Grafica de Edad del cultivo (semanas) versus promedio de porcentajes de incidencia.



Fuente: autor

7. DISCUSION

7.1 PROPIEDADES FÍSICAS DEL JUGO DE FIQUE.

El jugo de fique obtenido a partir de pencas de la variedad *Furcraea Gigantea*, cuyo nombre vulgar es *Negra Común*, presenta las características de color, olor y apariencia similares a los descritos en la literatura. Sin embargo, el jugo que se obtuvo en este caso fue extraído mediante la molienda de las pencas en un trapiche; por tal razón no hubo necesidad de prensar los residuos para separar la parte líquida como se hace al extraer el jugo en una máquina desfibradora. Este es un aspecto positivo ya que se evita la contaminación con partículas extrañas y la formación de espuma. Por lo tanto este es el proceso más factible y seguro de extraer el jugo de fique.

Los resultados de densidad relativa (1.027 g/ml), pH (4.86) son similares a los reportados en la literatura (densidad: 1.02 g/ml y pH: 4 – 5) cuando el jugo de fique no se ha fermentado. Después de 4 días de fermentación a temperatura ambiente tanto la densidad como el pH varían lo cual es a causa del proceso de fermentación.

7.2 ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR.

Las pruebas cualitativas de detección de metabolitos secundarios, sólo se deben considerar como una herramienta de posible identificación de los metabolitos secundarios debido a que existe una interferencia con otras sustancias químicas similares a las que se desea identificar en la muestra. Igualmente se puede presentar una confusión al interpretar los resultados debido a la baja cantidad de muestra utilizada y a la baja concentración de metabolitos presentes en la misma.

La prueba de detección de saponinas dio un resultado positivo en el ensayo de la espuma o agua caliente, obteniéndose una espuma que se mantuvo estable por un tiempo superior a un minuto, al igual dio resultado positivo la prueba de Molish y Hemolisis sanguínea.

Al realizar las pruebas de flavonoides se presentó una reacción pero no se observó ninguna coloración. La prueba de Shinoda se consideró negativa (ND) sin embargo se presentó una reacción exotérmica junto a la aparición de un precipitado blanco lo cual puede ser indicativo de la presencia de algún flavonoide (como una chalcona³) de otro tipo del que los que se están tratando de identificar

³ Chalconas: Es uno de los grupos en los que se ha clasificado a los flavonoides naturales para su estudio sistémico de acuerdo con las variantes estructurales que presentan. Estos grupos son

con esta prueba ya que de acuerdo a la literatura los flavonoides con el núcleo benzopirona (flavonas, flavonoles, flavanonas, etc.) producen coloraciones rojizas cuando se les adiciona magnesio seguido de HCl concentrado y para el caso de las chalconas que presentan una estructura diferente (carecen de el núcleo benzopirona) por ello no reaccionan con coloraciones (Martínez A, 2005).

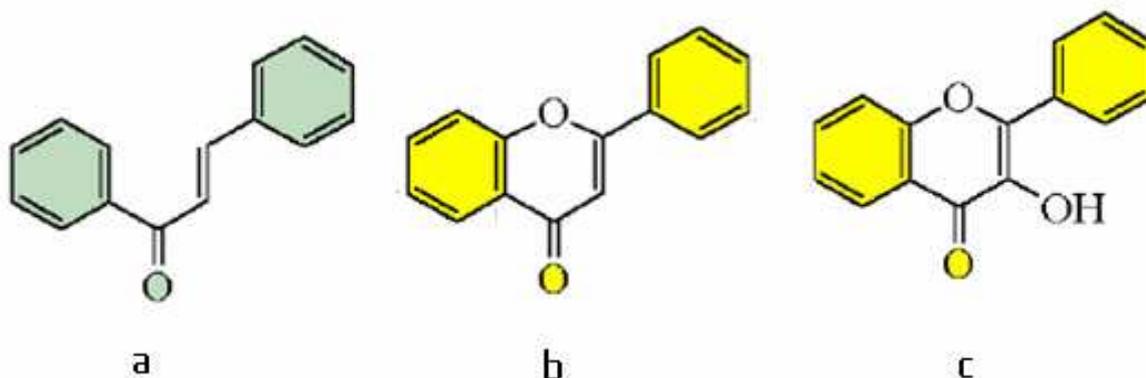


Figura 33: a) Estructura general de una chalcona, b) Estructura general de una flavona y c) estructura general de un flavonol.

Fuente: Revista de divulgación científica Ciencia Hoy, N° 34, 1996.

De acuerdo a la anterior figura la chalcona carece del anillo pirona (segundo anillo heterocíclico asociado), por lo anterior no podemos descartar la presencia de flavonoides del grupo chalconas en el jugo de fique.

7.3 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se consideró que no hay presencia del flavonoide quercetina en la muestra del jugo de fique. Sin embargo, no podemos decir que el jugo de fique contiene 0% de concentración de flavonoides en su composición ya que en este experimento solamente se contaba con un estándar y por ende no fue posible cuantificar otros tipos de flavonoides.

Además, en la graficas (Anexos 1, 4, 7, 10, 13 y 16) podemos observar varios picos entre ellos uno que se acerca mucho en su tiempo de retención al del flavonoide quercetina lo que significa que se trata de una sustancia muy parecida, la cual puede ser un flavonoide.

flavonas, chalcona, flavonoles, flavanonas, flavanoles, antocianidinas, catequinas, epicatequinas, auronas, isoflavonoides, pterocarpanos, rotenoides, etc.

En el análisis mediante Cromatografía de Gases CG-FID realizado se identificaron algunos alcaloides de los cuales el más relevante fue el 3 α -Tigloyloxy-6-propioniloxytropano con un área del 56.2% seguido del 6-hdroxyacetoxytropano con un 9.7%, lo que evidencia la presencia de alcaloides en el jugo de fique.

7.4 ESTABILIZACIÓN DEL JUGO DE FIQUE.

Después de dejar fermentar el jugo por cuatro días se aplicaron diversos tratamientos al mismo para buscar incrementar su vida útil, y de acuerdo a los resultados obtenidos con un proceso de filtración al vacío en papel filtro, pasterización lenta a una temperatura promedio de 65°C durante 30 minutos y adición del conservante sorbato de potasio en una concentración de 1000 ppm, fue posible alcanzar una vida útil de dos semanas lo que se consideró un tiempo muy corto para el caso de un producto que va a ser utilizado como biofungicida, por lo tanto, se aplicaron nuevos tratamientos como pasterización lenta a 65°C por 30 minutos, adición de conservante (sorbato de potasio en una concentración de 1000 ppm) y llenar y tapar en caliente herméticamente en un franco ambar, con lo que se logró alcanzar una vida útil de seis meses, la cual se considera apta para un biofungicida de uso agrícola. Sin embargo, la aplicación de estos tratamientos debe ser de manera muy estricta y con todas las normas de sanidad para con el producto; es decir, se debe evitar el contacto con todo foco de contaminación y usar los instrumentos necesarios previamente desinfectados y limpios así como uso de overol, tapabocas y guantes.

En el jugo de fique se encontró que hay saponinas y alcaloides. Por lo tanto, estos metabolitos secundarios pueden ser los responsables de que este jugo presente características especiales como la actividad fungicida que se ha comprobado en esta investigación.

7.5 ELABORACIÓN DEL BIOFUNGICIDA.

El proceso de elaboración del biofungicida a partir del jugo de fique fue un proceso más dispendioso desde el momento de la extracción del jugo ya que se trabajó con un volumen de 80 litros, a los que se les aplicó el mismo procedimiento con el cual se obtuvo una vida útil de seis meses en una muestra.

Para este caso las dificultades en la planta de proceso incrementaron y el control de las normas de sanidad fue más difícil debido al mayor volumen de producto. Al cabo de los seis meses se presentó una descomposición de 8 litros del biofungicida que se pudo causar por una recontaminación en el llenado de los envases o por una mala desinfección de los mismos.

7.6 EVALUACIÓN DEL BIOFUNGICIDA EN CAMPO ABIERTO.

Después de aplicar el biofungicida y el tratamiento tradicional se realizaron diferentes conteos de incidencia de la enfermedad la cual por la época de invierno tuvo las condiciones óptimas de desarrollo. Al analizar los resultados se puede decir que el biofungicida es apto para la prevención de la enfermedad al ser utilizado en las dos concentraciones más altas de 30 y 45 litros/Ha (7.5% y 11.25%), ya que para estos dos casos presentó similar efectividad de protección que el tratamiento tradicional con manzate. Sin embargo la frecuencia de aplicaciones es el doble que la tradicional.

La concentración más baja de 15 litros/Ha (3.75%) no es eficiente frente a la enfermedad, pero hay que tener en cuenta que las condiciones climáticas en las que se realizaron los experimentos fueron extremadamente adversas.

8. ANALISIS DE COSTOS

8.1 COMPARACIÓN DE LOS COSTOS DE PRODUCCIÓN.

Se realizó un análisis de costos de producción del biofungicida, para compararlos con los costos que surgen aplicando el tratamiento tradicional con manzate.

En el cuadro 37 se muestran todos los costos requeridos en la producción del biofungicida a partir del jugo de fique: Este análisis se realizó con una base de cálculo de 20 litros de materia prima (jugo de fique).

En el cuadro 38 se presenta el análisis de costos por compra y utilización de los agroquímicos tradicionales que se deben aplicar en un cultivo de papa incluido el valor del manzate.

Cuadro 37: Costos de producción del biofungicida.

Costo (\$)	Unidad	Cantidad	Costo Unitario	Costo total
Jugo de fique	Litro	20	200,00	4000
Transporte	caneca 20 l	1	1000,00	1000
Costo de energía	caneca 20 l	1	2500,00	2500
Conservante	10 gramos	2	300,00	600
Envase	4 litros	4	800,00	3200
Mano de obra (25% del total)			3390	3390
Costo Total (16 litros de biofungicida)				14690
Costo por litro				918,1
Utilidad	30%		275,44	275,4
Costo total por litro de biofungicida				1193,6

Fuente: autor

De acuerdo a la anterior información el precio total por cada litro de biofungicida es de \$ 1194, teniendo en cuenta un 30% de utilidades.

El costo total por hectárea (cuadro 38), al usar el tratamiento tradicional con manzate por Ha de cultivo desarrollado por el método tecnificado es de \$ 270.000,00 que equivale al porcentaje más alto con un 27% del total de costos por agroquímicos.

Asumiendo que se reemplazaría en un 50% el manzate por el biofungicida, es decir que se realizarían aplicaciones intercaladas de biofungicida y manzate. Para tal caso se realizarían 7 aplicaciones de manzate y 15 del biofungicida. Teniendo en cuenta que para cada fumigación es necesario medio jornal.

Cuadro 38: Costos de agroquímicos utilizados por Hectárea de papa sembrada.

Agroquímico	Unidad	Cantidad (Ha)	Costo Unitario(\$)	Costo total (pesos)	Porcentaje (%)
Herbicida Glifosato	litro	3	11500,00	34500	3,55
Insecticida Carbofuran	litro	6	27250,00	163500	16,81
Piretroide	litro	1	45000,00	45000	4,63
Metamidofos	litro	2	22750,00	45500	4,68
Clorpirifos	litro	5	25500,00	127500	13,11
Fungicida Manzate	kilo	24	11250,00	270000	27,75
Metalxil	kilo	3	14000,00	42000	4,32
Cymoxanil	kilo	12	11900,00	142800	14,68
Dimetomorf	Kilo	1	102000,00	102000	10,49
TOTAL				972800	100,00

Fuente: Secretaria de agricultura de Nariño (Datos del periodo B del 2006).

Cuadro 39: Costos de aplicación del biofungicida de acuerdo a las concentraciones usadas.

Concentracion L /Ha	Aplicaciones en 120 días	Cantidad Requerida (litros)	Costo unitario (\$)	Costo total (\$)
15	15	225	1193,6	268.551,6
30	15	450	1193,6	537.103,1
45	15	675	1193,6	805.654,7

Fuente: Autor

De acuerdo con la anterior información (tabla 39) se puede verificar que al utilizar la concentración de 15 l/Ha, se obtienen menores costos en comparación con la aplicación tradicional de manzate. En cambio, al aplicar las mayores concentraciones del biofungicida el costo se incrementa por encima del costo del manzate, lo cual puede significar una dificultad en el momento de adoptar esta nueva forma de cultivo. Sin embargo, hay que considerar que al aumentar los volúmenes de producción y contando con un centro de beneficio de fique los

costos de fabricación del biofungicida pueden disminuir sustancialmente hasta por debajo de la mitad de los actuales.

Si se tiene en cuenta la mano de obra, al realizar una aplicación mixta de biofungicida y manzate esta se incrementa a 11 jornales (22 aplicaciones en total), con un costo de \$110.000, mientras que aplicando solo el manzate es necesario 7 jornales (14 aplicaciones) con un costo de \$ 70.000, es decir hay un incremento de \$ 40.000 en los costos de producción de una Ha de papa. Sin embargo este costo adicional se ve totalmente justificado en el producto obtenido porque se trata de un producto más limpio y libre de contaminantes químicos por lo cual su consumo va a ser más saludable y seguro.

Además de los grandes beneficios sobre el medio ambiente ya que se está dejando de contaminar los suelos y el agua y con ello las posibilidades de vida silvestre son mayores en las zonas de cultivo de papa.

También se realizó un análisis de los beneficios económicos que el desarrollo de este nuevo biofungicida les puede proporcionar a los productores de fique del departamento de Nariño.

8.2 ESTIMACIÓN DE LA CANTIDAD DEL BIOFUNGICIDA QUE PODRÍA SER DEMANDADA EN EL DEPARTAMENTO DE NARIÑO.

Para esta estimación se tiene en cuenta solamente la mitad del área sembrada del municipio de Pasto para el semestre B del año 2006, correspondiente a 1250 Ha (8.85%), para un total de 14.111 Ha en todo el departamento (100%), lo cual es un porcentaje razonable. Para este caso también se tuvieron en cuenta las concentraciones que pueden ser aplicadas en los cultivos.

Cuadro 40: Estimación del beneficio económico por venta de jugo de fique.

Cantidad de aplicaciones: 15 Precio de venta del jugo: \$ 200						
<i>Concentración L/Ha</i>	<i>Aplicaciones</i>	<i>Total</i>	<i>Área sembrada Pasto (ha)</i>	<i>Cantidad requerida (litros)</i>	<i>Precio de venta del jugo por litro</i>	<i>Precio total</i>
15	15	225	1250	281.250	200	56.250.000
30	15	450	1250	562.500	200	112.500.000
45	15	675	1250	843.750	200	168.750.000

Fuente: autor

De acuerdo a la tabla 40, el beneficio para los productores de fique sería de 56'250.000 de pesos como mínimo y con un máximo de 168'750.000 de pesos, lo que significa que se verían muy beneficiadas estas familias productoras campesinas por la venta de un subproducto del cultivo de fique que en la actualidad no genera ningún ingreso.

Además en estas zonas también se verán reflejados los beneficios ambientales porque todos los residuos líquidos que en la actualidad afectan los suelos, ríos y quebradas dejarían de hacerlo y con ello las fuentes hídricas anteriormente mencionadas podrían ser utilizadas sin ningún riesgo para el consumo humano y la crianza de peces. Es decir gracias a el aprovechamiento de los residuos líquidos del fique ya no se verá afectada la disposición del recurso agua en estas regiones.

CONCLUSIONES.

- El jugo de fique se puede utilizar como un biofungicida para prevenir la gota (*Phytophthora Infestans*) en la papa.
- El tratamiento que resultó efectivo para lograr estabilizar el jugo de fique y obtener un biofungicida de larga vida útil de seis meses fue aquel en el que se realizó un proceso de filtración al vacío, tratamiento térmico para inactivar enzimas, adición de conservantes evitando al máximo la recontaminación del producto.
- Posiblemente las saponinas y alcaloides tienen incidencia sobre las propiedades fungicidas del jugo de fique (*Furcraea* spp).
- La frecuencia de aplicación del biofungicida a partir de jugo de fique se debe realizar de acuerdo a las condiciones climatológicas; es decir, en condiciones adversas con mayor frecuencia que en condiciones normales. Dicha frecuencia varía entre 3 y 8 días entre cada aplicación.
- Si llega a ser factible la producción y comercialización del biofungicida a partir del jugo de fique el beneficio económico para las familias productoras de fique es muy significativo teniendo en cuenta que lo van a obtener de un subproducto que anteriormente se desechaba y únicamente ocasionaba problemas ambientales.

RECOMENDACIONES

- En condiciones adversas de invierno en donde se presentan lluvias casi todos los días no es recomendable realizar cultivos de papa porque en estas condiciones no es posible garantizar la inmunidad de los cultivos frente a la gota ni aún utilizando tratamientos químicos tradicionales.
- Se debe potencializar el efecto biocida del biofungicida a partir de jugo de fique, adicionando extractos de otras plantas que tengan actividad alelopática frente a las plagas, como son el *Tagetes Patula* o el *Ricinus Communis* (higuerilla).
- También es recomendable aplicar los dos tratamientos de manera conjunta e intercalada, es decir una aplicación del biofungicida orgánico seguida de una del fungicida químico, con lo cual se va a lograr bajar los niveles de contaminación del producto y el ambiente además de evitar que la plaga genere resistencia y se vuelva incontrolable.
- En el caso de condiciones de exceso de lluvias y humedad, el biofungicida debe ser aplicado a variedades de papa tolerantes a la gota como la parda suprema.
- Realizar un estudio químico detallado de los componentes del jugo de fique.
- Analizar el posible efecto sobre la incidencia de la enfermedad dado por el tiempo de fermentación del jugo de fique.
- Ensayar el jugo de fique como biofungicida en otras variedades de papa y en otros cultivos.

BIBLIOGRAFIA

- Acevedo J y Serna E. Optimización del proceso de extracción de material orgánico procedente de fique (*Furcraea* sp.) y observación del efecto biofungicida. Universidad Pontificia Bolivariana de Medellín. Facultad de Ingeniería Química e Ingeniería Agroindustrial. 2004.
- Alejandro Martínez M. Flavonoides. Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia, Medellín, 2005.
- Aleman M y Funt S. Prácticas de Bioquímica, Editorial Alhambra S.A primera edición, Madrid 1983.
- Apablaza G, Diaz M, San Martin R y Moya E, Control de oidio de las cucurbitáceas con saponinas presentes en extractos de quillay (*Quillaja saponaria*), Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Facultad de Ingeniería Civil Industrial, Pontificia Universidad Católica de Chile, 2000.
- Arias G. y Cano D. Evaluación de propiedades insecticidas del jugo de fique. Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias. 1996.
- Arnason J, Philogene B. y Morand P. Insecticides of plant origin. American chemical society A.C.S series. 1989. Washington D.C.
- Arroyave P y Velásquez D. Aprovechamiento integral de *Furcraea macrophylla* Backer. Universidad EAFIT. Departamento de Ingeniería de Procesos, Medellín. 2001.
- Assem El-Shazly. Pyrrolizidine Alkaloid Profiles of Some *Senecio* Species from Egypt. Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Zagazig University, Egypt. 2002.
- Blunden G, Carabot A and Jewers K. Steroidal saponinins from leaves of some species of *Agave* and *Furcraea*. *Phytochemistry volume 19, issue 11, 1980*.
- Compañía de Empaques S.A, CORANTIOQUIA y otros. Manual de buenas prácticas para el cultivo y beneficio del fique, 2004.
- Daly D. The leaf that launched a thousand sips. In Natural History. 1996.

Dekker, M. Agrochemicals from natural products. CRA Godfrey Zeneca Agrochemicals, Jealott's Hill. New York, Basel, Hong Kong, 1994

Dominguez X. A. Métodos de Investigación Fitoquímica, Centro regional de ayuda técnica Ed. Grafica Panamericana Mexico, 1973.

Erwin D and Ribeiro O. Phytophthora diseases world wide. Minnesota, 1996.

Estrada R. La biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa. Edición de Hardy, Bolivia , 2000.

Farril N. Universidad De Puerto Rico, Recinto Universitario De Mayaguez, Departamento de Protección de Cultivos. Marzo del 2004.

Fernandez L. Fitoquímica del Agave salmiana; Tesis profesional; Universidad de las Américas, Puebla. Escuela de Ciencias; Departamento de Química y Biología. México, 2005.

Fragoso V. Tesis profesional para licenciatura UDLAP, Mexico, 2001

Fuertes C, Roque M y Tristan M. Flavonoides y alcaloides de *lupinus ballianus* c.p. smith con actividad antibacteriana y antifúngica. Ciencia e Investigación: Vol. 1 N° 2, 1998.

Gallego J. Introducción a la agricultura ecológica, Ponencia Dia Mundial De la Alimentación, Manizales 1995.

Gómez M y Vanegas E. Evaluación de la producción de esteroides a partir del jugo de fique con *Cunninghamella* spp. Universidad Pontificia Bolivariana de Medellín. Facultad de Ingeniería Química. 2001.

Gómez H. Jorge E. Evaluación del extracto de fique en el desarrollo in-vitro de *Colletotrichum gloeosporoides* (Penz) Penz & Sacc. y *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Corpoica. Popayán: 2001.

Guenounea D, Galilia S, Phillips D, Volpin H and Chet I, The defense response elicited by the pathogen *Rhizoctonia solani* is suppressed by colonization of the AM-fungus *Glomus intraradices* Plant Science Volume 160, Issue 5 , 2001,

Farril H, Especialista en Etmología. Universidad De Puerto Rico, Recinto Universitario De Mayaguez, Colegio De Ciencias Agrícolas, Departamento de Protección de Cultivos. 2004.

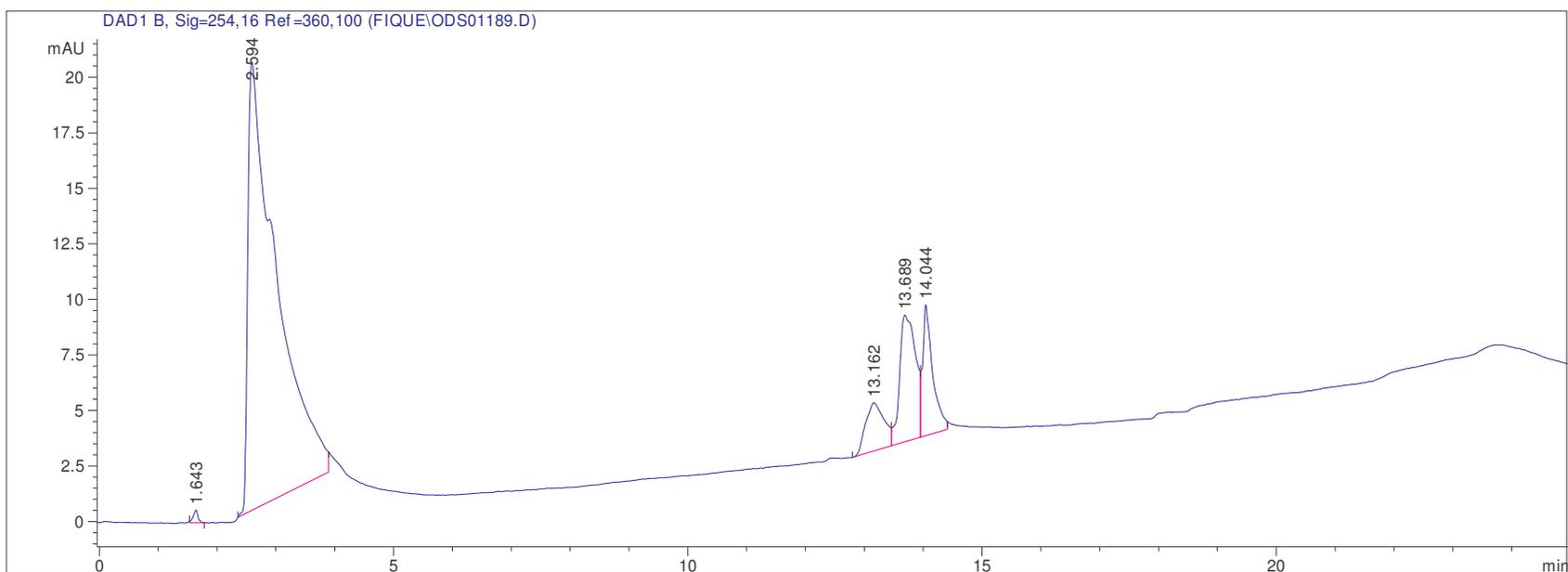
O'Farril H, Las Plagas del hogar y el jardín; Universidad de Puerto Rico, 2004.

- MADR, IICA y CORPOICA. Diagnóstico Estratégico de la cadena del Fique, 2004.
- Martínez A y Caicedo T. Bioensayo de toxicidad de los jugos de fique en peces, en el municipio de Tambo (Nariño). Bogotá: Universidad El Bosque, 2002.
- ____Ministerio de Agricultura, Guia ambiental para el subsector Fiquero. Bogotá: 2006.
- ____Ministerio de Agricultura. La Agricultura Ecológica En Colombia, 2007.
- Mojica A y Paredes J. Santander Informe de Coyuntura económica regional.
- Niño J, Bustamante A, Correa Y y Mosquera O. Evaluación de extractos vegetales para el control de la broca del café (*hypothenemus hampei*, ferrari), Universidad Tecnológica de Pereira. Scientia et Technica Año XIII, No 33, 2007
- ____Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de la Asociación Ciencia Hoy. CIENCIAHOY, Volumen 6 - N°34 - 1996
- Ruiz Poveda, Flavonoides del Género Sideritis Lamiaceae por HPLC; Tesis Doctoral, Madrid 1995
- ____Secretaria de agricultura de Nariño. Consolidado Agropecuario 2005.
- Segura R. Estudio de factibilidad para el montaje de una planta experimental de produccion de hecogenina a partir de los jugos de fique en el Municipio de El tambo Nariño. Universidad nacioanl de Colombia 2004.
- Sunseri M and Johnson D. Potato Late Blighth: How long can sporangia survive. Hamburg Germany, 2002.
- Tsvetelina Doncheva , Strahil Berkov , Stefan Philipov. Comparative study of the alkaloids in tribe Datureae and their chemosystematic significance.Biochemical Systematic and Ecology.Elservier.2006
- Valencia O, Gutierrez J, Silva D, Gómez M, e Isaza J. Actividad insecticida de extractos de bocconia frutescens l. sobre *Hypothenemus hampei* F. Universidad del Quindío, Grupo de Polifenoles Universidad Tecnológica de Pereira-CENIVAM, Scientia et Technica Año XIII, No 33, 2007.
- Vleeshouwers V, Dooihewerth W, Govers F, Kamoun S and Colon L. The hypersensitive response is associated with host and nohost resistance tp Phytophthora Infestans, 2000.

ANEXOS

 UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA SEDE MEDELLÍN	REPORTE DE RESULTADOS DE ANALISIS POR HPLC		Código: FAR-002
	LABORATORIO DE ANALISIS INSTRUMENTAL		Versión: 001
			Solicitud: 066

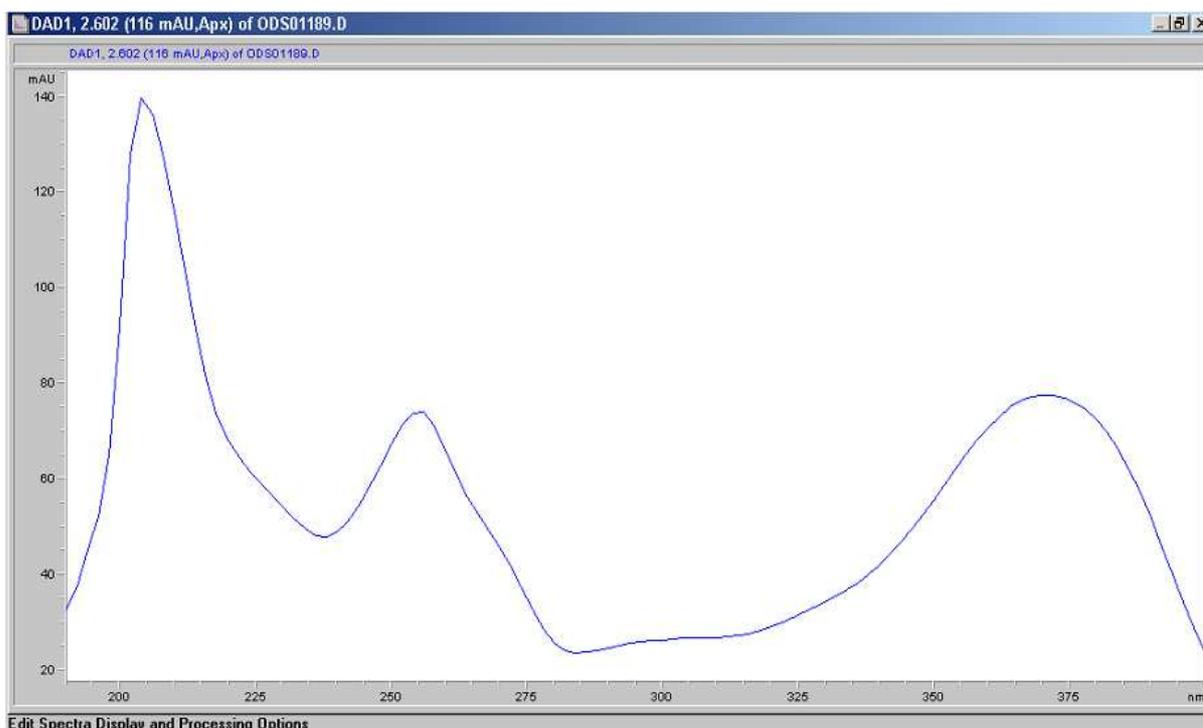
Anexo A: HPLC: Pico para el estándar quercetina a 60 ppm.



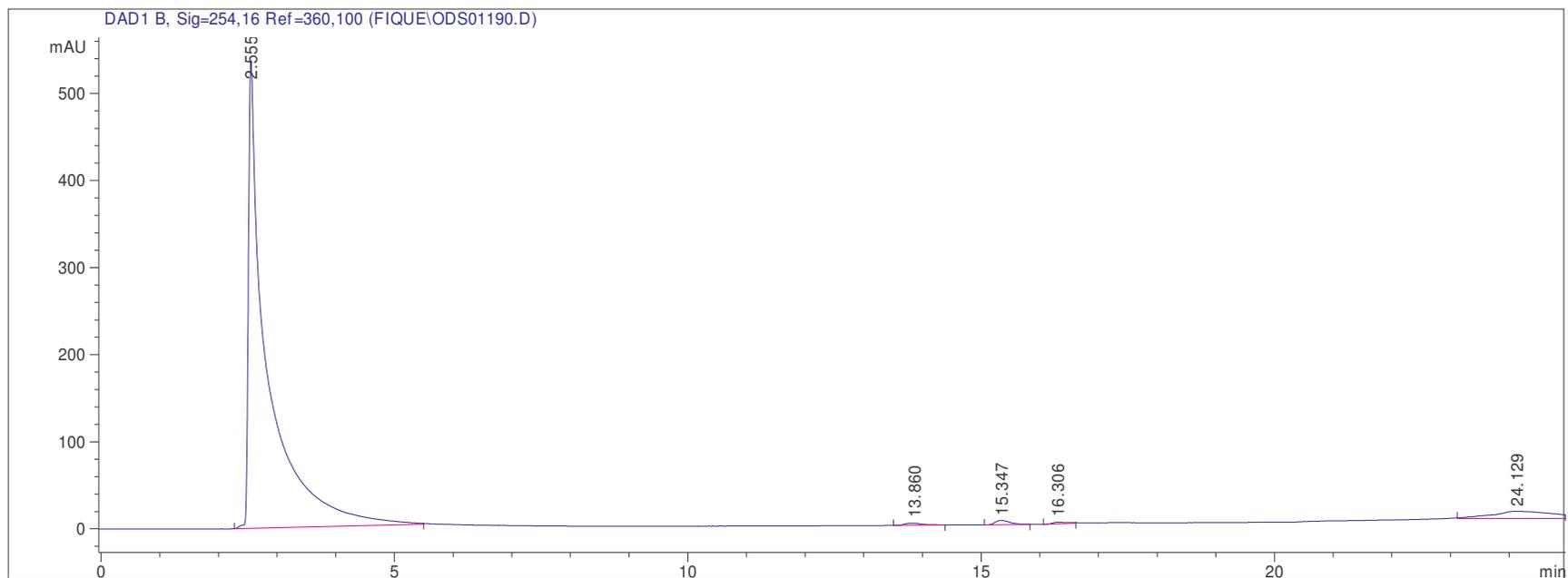
Anexo B: Reporte porcentual de las áreas para la quercetina a 60 ppm.

Nº Pico	Tiempo de retención (min.)	Ancho	Área corregida mUA*s	Altura de pico mUA	Porcentaje de Área, %
1	1.643	0.0854	3.22271	5.74622e-1	0.3520
2	2.594	0.4430	686.94550	20.18804	75.0360
3	13.162	0.2919	47.16420	2.16727	5.1518
4	13.689	0.2546	107.84367	5.70217	11.7799
5	14.044	0.1550	70.31197	5.90060	7.6803

Anexo C: Reporte porcentual de las áreas para la quercetina a 60 ppm.



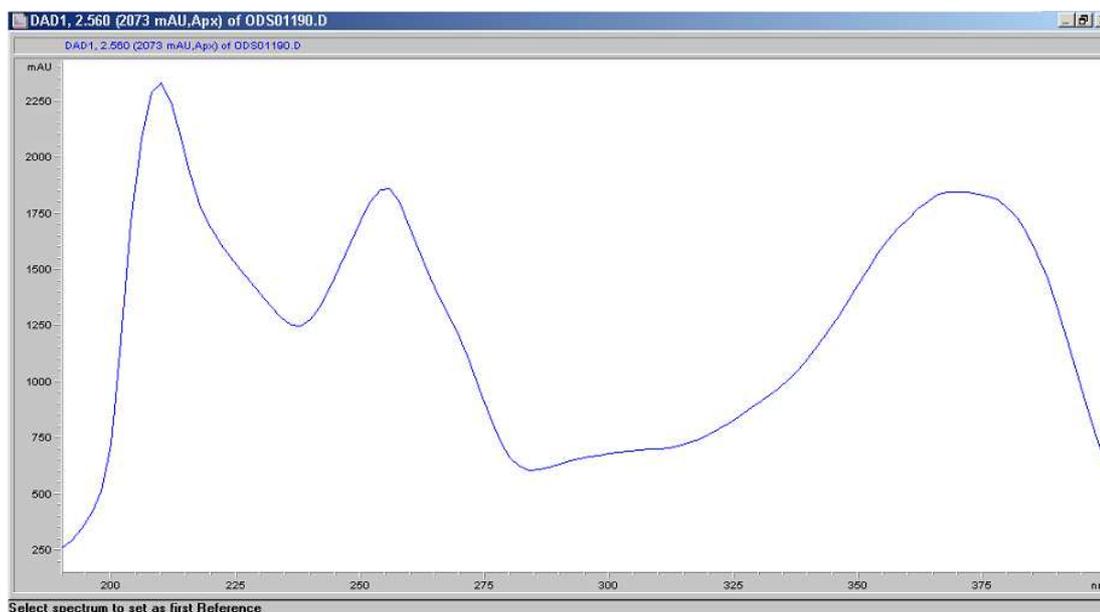
Anexo D. HPLC: Pico para el estándar quercetina a 160 ppm.



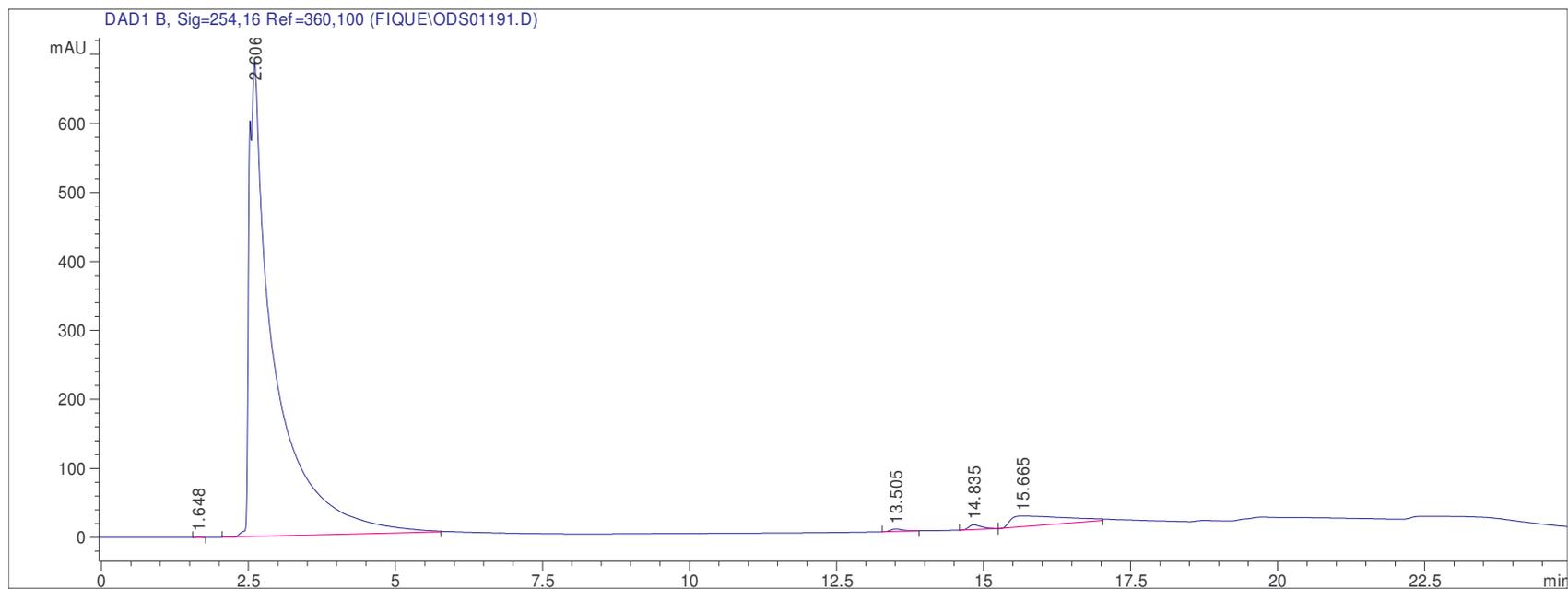
Anexo E. Reporte porcentual de las áreas para la quercetina a 160 ppm.

Nº Pico	Tiempo de retención (min.)	Ancho	Área corregida mAU*s	Altura mAU	Porcentaje de Área, %
1	2.555	0.2837	1.19673e4	537.55975	94.0815
2	13.860	0.2897	52.77460	2.35292	0.4149
3	15.347	0.2795	88.36305	4.92088	0.6947
4	16.306	0.2205	30.95125	1.89535	0.2433
5	24.129	0.8885	580.75714	8.31878	4.5656

Anexo F. Espectro para la quercetina a 160 ppm.



Anexo G. HPLC Pico para el estándar quercetina a 260 ppm.



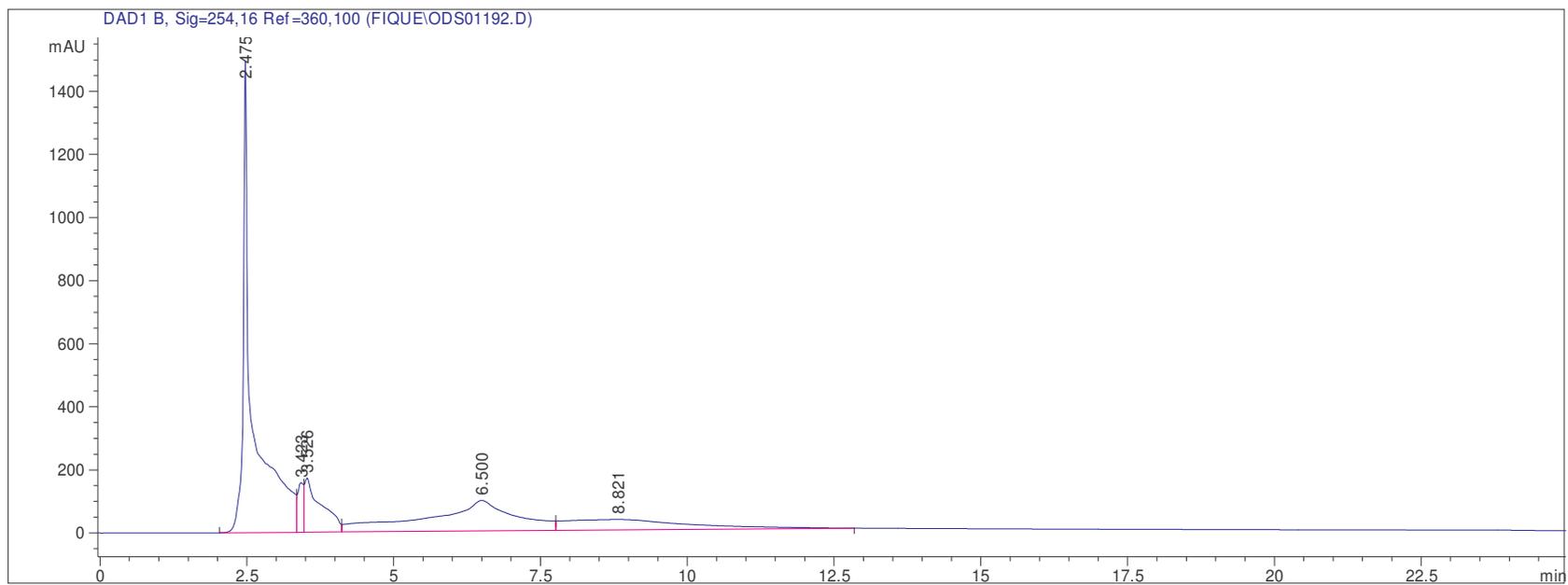
Anexo H. Reporte porcentual de las áreas para la quercetina a 260 ppm.

Nº Pico	Tiempo de retención (min.)	Ancho	Área corregida mUA*s	Altura de pico mUA	Porcentaje de Área, %
1	1.648	0.0803	2.94089	5.17117e-1	0.0136
2	2.606	0.3704	2.05553e4	688.38434	94.9952
3	13.505	0.2286	57.05091	3.60474	0.2637
4	14.835	0.2279	97.30922	6.52834	0.4497
5	15.665	0.7964	925.66095	15.37479	4.2779

Anexo I. Superposición de espectros de estándares



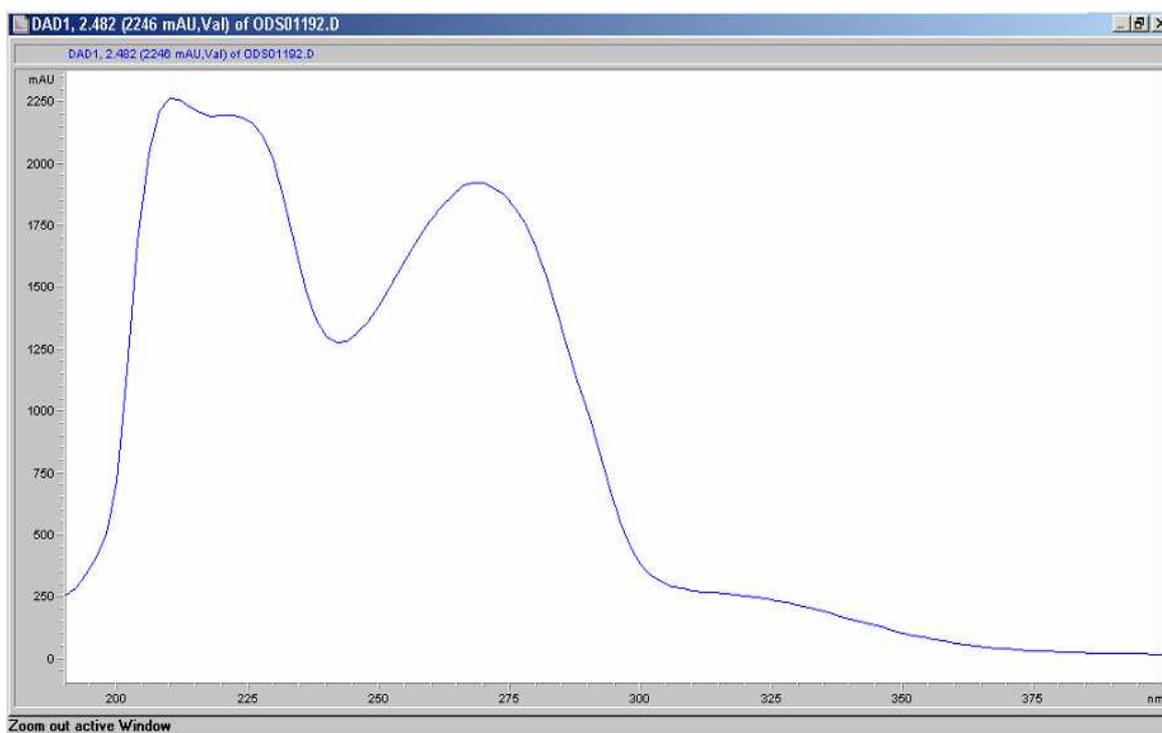
Anexo J. Pico para la muestra 1.



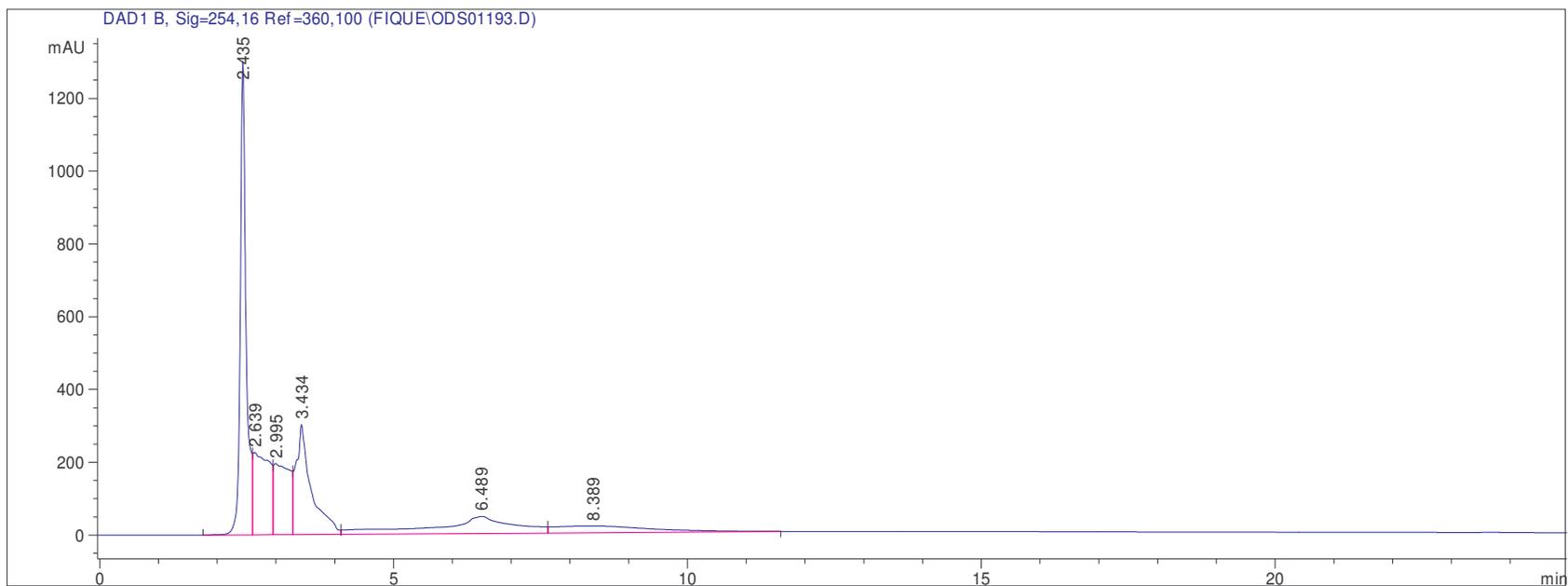
Anexo K. Reporte porcentual de las áreas para la muestra 1.

Nº Pico	Tiempo de retención (min.)	Ancho	Área corregida mUA*s	Altura de pico mUA	Porcentaje de Área, %
1	2.475	0.1463	1.69714e4	1496.21753	46.6013
2	3.423	0.1019	1076.36523	157.06821	2.9556
3	3.526	0.2547	3428.02954	171.90089	9.4129
4	6.500	1.2801	9970.58398	96.92921	27.3780
5	8.821	1.9322	4971.87939	33.25561	13.6522

Anexo L. Espectro para la muestra 1.



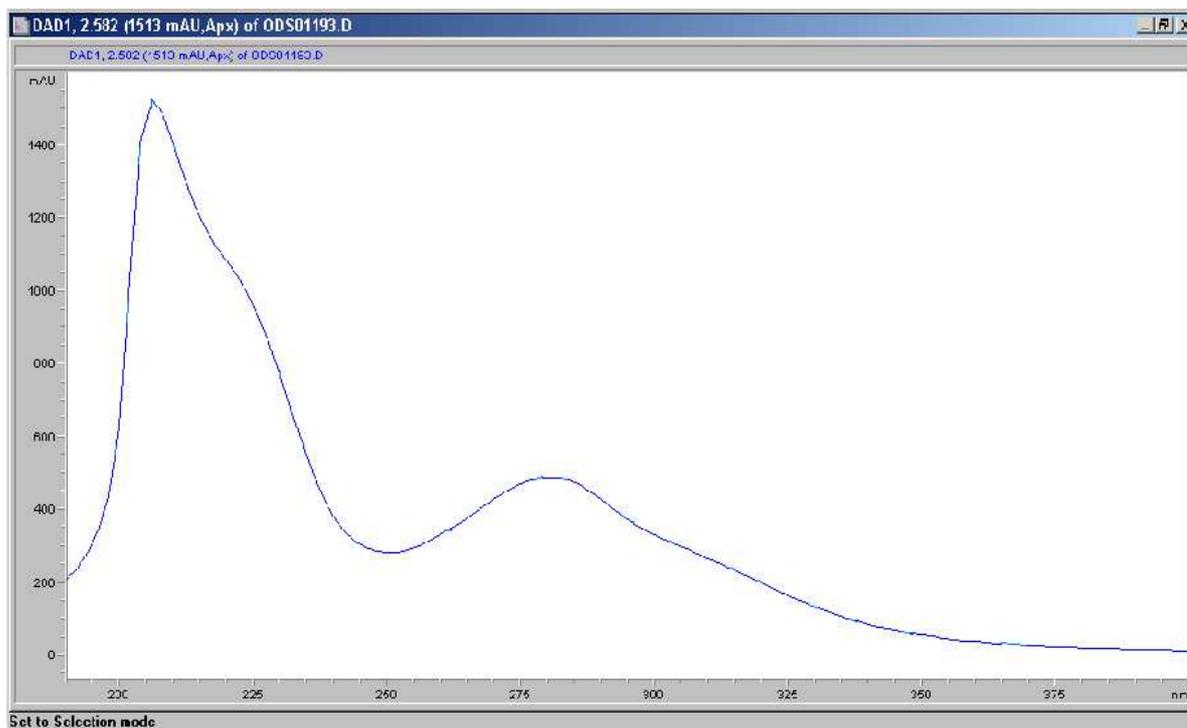
Anexo M. HPLC: Pico para la muestra 2.



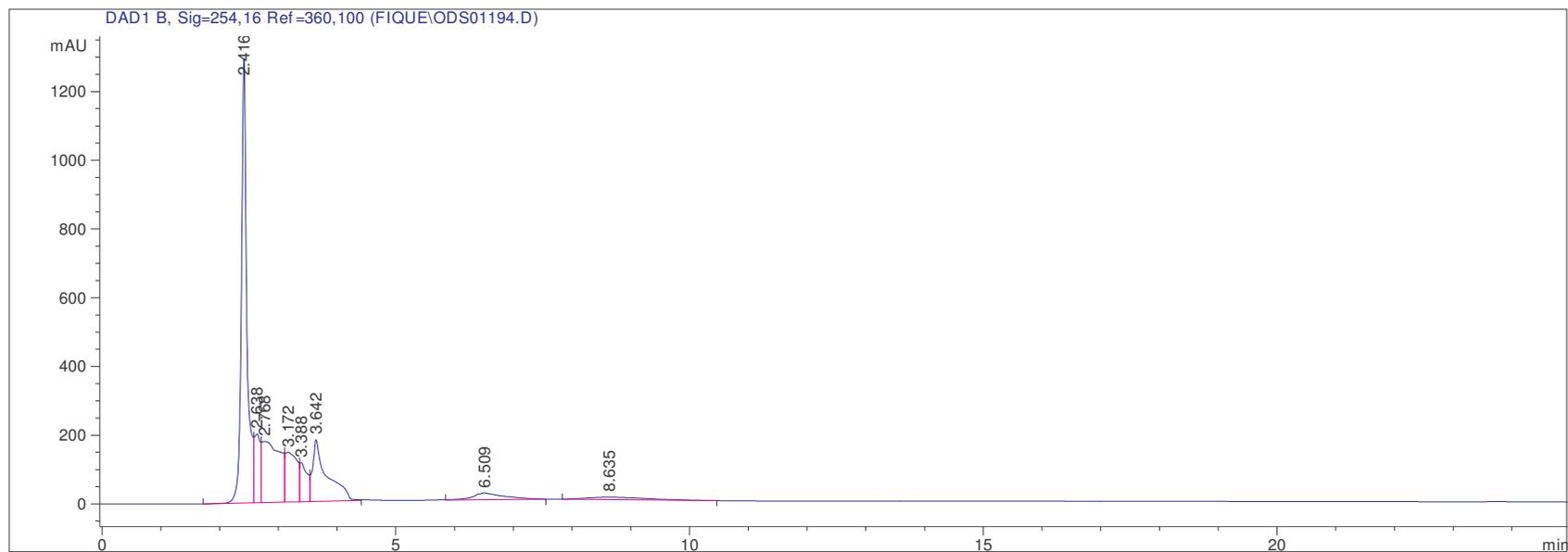
Anexo N. Reporte porcentual de las áreas para la muestra 2.

Nº Pico	Tiempo de retención (min.)	Ancho	Área corregida mUA*s	Altura de pico mUA	Porcentaje de Área, %
1	2.435	0.0986	8988.40234	1300.43237	30.9356
2	*2.639	0.2421	4385.72266	226.34375	15.0944
3	2.995	0.2377	3746.89941	195.40860	12.8958
4	3.434	0.2252	5477.22754	302.61127	18.8511
5	6.489	1.1321	4317.42529	46.46378	14.8594
6	8.389	1.4249	2139.55884	18.42262	7.3638

Anexo O. Espectro para la muestra 2.



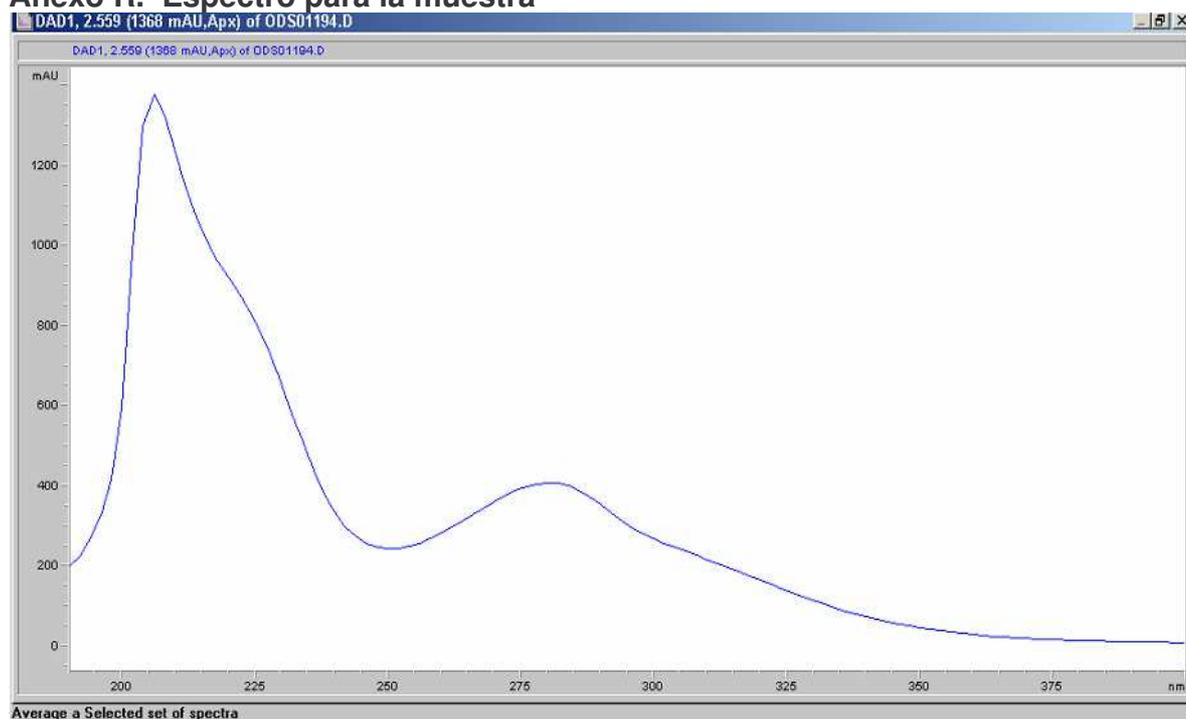
Anexo P. HPLC: Pico para la muestra 3.



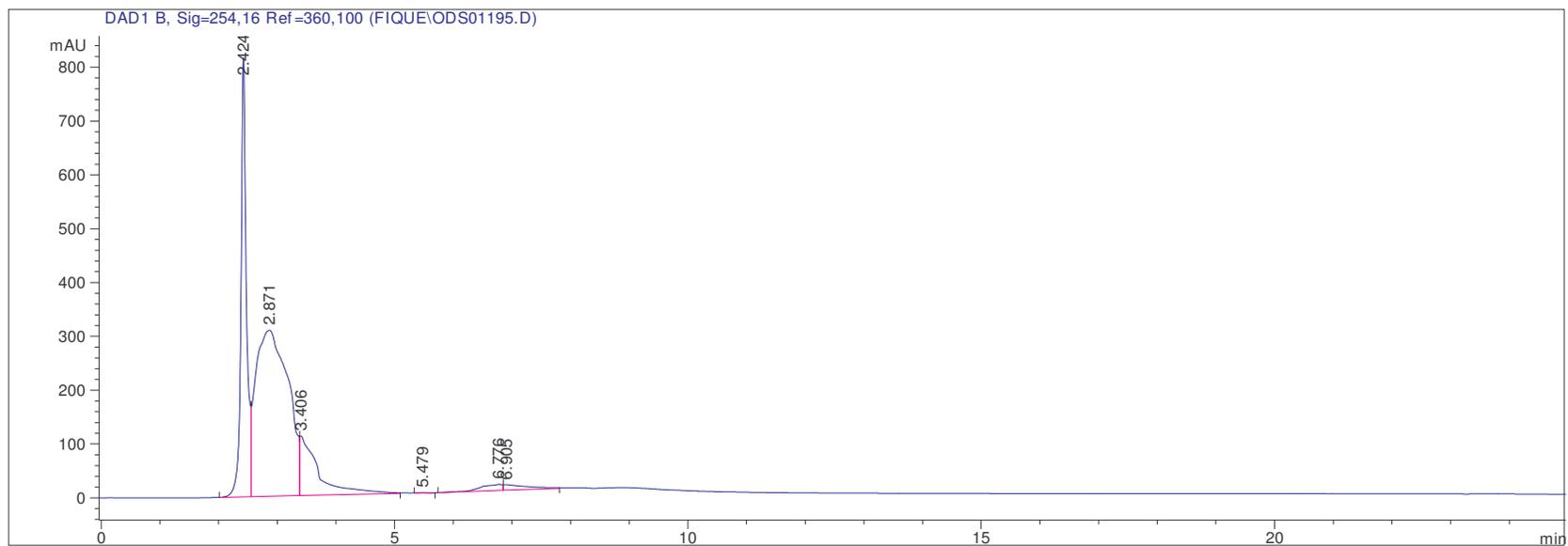
Anexo Q. Reporte porcentual de las áreas para la muestra 3.

Nº Pico	Tiempo de retención (min.)	Ancho	Área corregida mUA*s	Altura de pico mUA	Porcentaje de Área, %
1	2.416	0.0951	8584.61621	1299.53442	40.4176
2	*2.638	0.0986	1414.56152	199.70428	6.6600
3	2.768	0.3066	3876.97534	177.64874	18.2534
4	3.172	0.1808	2040.30286	144.47559	9.6060
5	3.388	0.1185	997.23157	113.52381	4.6951
6	3.642	0.2197	3079.31421	179.85439	14.4979
7	6.509	0.4533	738.09906	20.15413	3.4751
8	8.635	0.9233	508.67841	7.10441	2.3949

Anexo R. Espectro para la muestra

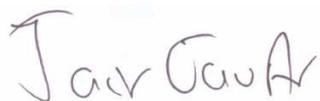


Anexo S. HPLC: picos para la muestra con adición de estándar (quercetina)



Anexo T. Reporte porcentual de las áreas para la muestra con adición de estándar.

Nº Pico	Tiempo de retención (min.)	Ancho	Área corregida mUA*s	Altura de pico mUA	Porcentaje de Área, %
1	2.424	0.0910	5269.48340	819.40863	26.2096
2	2.871	0.5010	1.18116e4	308.26056	58.7493
3	3.406	0.2720	2438.65015	110.25464	12.1295
4	5.479	0.0887	3.52138	5.98110e-1	0.0175
5	6.776	0.3201	296.99231	11.39221	1.4772
6	6.905	0.3351	284.86713	10.35029	1.4169



JAIR GAVIRIA ARANGO
Coordinador

Fecha de entrega de resultados: 04/12/2007

Laboratorio Análisis Instrumental
Autopista Norte Cra 64* Calle 65 Bloque 19ª (212)
Universidad Nacional de Colombia – sede Medellín
labinstru@unalmed.edu.co. Tel. 4-4309385

Anexo U. Desarrollo del cultivo (variedad Diacol Capiro).

Desarrollo del cultivo			
Edad del cultivo	Fecha	Actividad	Lluvias
-	02-ene	siembra	no
-	02-ene	abono 1	si
0	15-ene	nacimiento	si
1	20-ene	re abono	si
1	20-ene	retape	no
2	30-feb	Renacen	si
2	30-feb	Fumigación 1	si
3	04-feb	Fumigación 2	
3	08-feb	Fumigación 4	si
4	13-feb	Fumigación 5	no
5	18-feb	Fumigación 6	si
6	23-feb	Fumigación 7	si
6	28-feb	Fumigación 8	si
7	04-mar	Fumigación 9	si
7	09-mar	Fumigación 10	no
8	14-mar	Fumigación 11	si
9	19-mar	Fumigación 12	si
10	24-mar	Fumigación 13	si
10	29-mar	Fumigación 14	si
11	03-abr	Fumigación 15	no
12	08-abr	Fumigación 16	si

Anexo V. Conteo de incidencia de la enfermedad.

	fecha	TA1	%	TA2	%	TA3	%	TB1	%	TB2	%	TB3	%	TC1	%	TC2	%	TC3	%	TD1	%	TD2	%	TD3	%	TE1	%	TE2	%	TE3	%
Edad (sem)	Nº Plantas	75		74		76		73		77		75		76		75		75		75		74		77		74		72		72	
0	15-ene	0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0	
1	20-ene	0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0	
2	30-feb	0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0	
3	04-feb	0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0	
4	16-feb	0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0	
5	23-feb	9	12	8	11	10	13,16	7	9,6	8	10	8	11	8	10,5	6	8	8	11	7	9,3	6	8,1	8	10,4	12	16	11	15	13	18
6	01-mar	10	13,33	9	12	11	14,47	7	9,6	9	12	10	13	9	11,8	7	9,3	9	12	9	12	8	11	10	13	32	43	35	49	36	50
7	08-mar	12	16	10	14	12	15,79	10	14	10	13	9	12	11	14,5	9	12	10	13	10	13	8	11	11	14,3	50	68	52	72	54	75
8	15-mar	16	21,33	15	20	15	19,74	14	19	16	21	14	19	15	19,7	13	17	14	19	13	17	13	18	15	19,5	69	93	70	97	68	94
9	22-mar	17	22,67	18	24	20	26,32	17	23	17	22	19	25	16	21,1	16	21	18	24	17	23	15	20	17	22,1	74	100	72	100	72	100
10	29-mar	25	33,33	26	35	28	36,84	24	33	26	34	28	37	24	31,6	25	33	27	36	25	33	24	32	25	32,5		0		0		0
11	05-abr	36	48	37	50	39	51,32	38	52	39	51	37	49	33	43,4	38	51	36	48	37	49	37	50	36	46,8		0		0		0

Anexo W. Incidencia (%) de gota de papa respecto a la edad del cultivo.

Tiempo (semanas)	TA1	TA2	TA3	PROMEDIO
0	0	0	0	0
4	0	0	0	0,00
5	6,67	5,4	7,89	6,65
6	12	11	10,5	11,17
7	16	14	15,8	15,27
8	21,33	20	19,7	20,34
9	24	26	26,3	25,43
10	36	38	36,8	36,93
11	54,67	53	55,3	54,32
	TB1	TB2	TB3	
0	0	0	0	0,00
4	0	0	0	0,00
5	8,2	6,5	6,7	7,13
6	9,6	12	11	10,87
7	14	13	12	13,00
8	19	21	19	19,67
9	23	22	25	23,33
10	33	34	37	34,67
11	52	51	49	50,67
	TC1	TC2	TC3	
0	0	0	0	0,00
4	0	0	0	0,00
5	7,89	6,3	6,7	6,96
6	11,8	9,3	11	10,70
7	14,5	12	13	13,17
8	19,7	17	19	18,57
9	21,1	21	24	22,03
10	31,6	33	36	33,53
11	43,4	51	48	47,47
	TD2	TD3		
0	0	0	0	0,00
4	0	0	0	0,00
5	8	5,4	6,49	6,63
6	12	11	10,4	11,13
7	13	11	14,3	12,77
8	17	18	19,5	18,17
9	23	20	22,1	21,70

10	33	32	32,5	32,50
11	49	51	46,8	48,93
Edad (semanas)	TE1	TE2	TE3	
0	0	0	0	0,00
4	0	0	0	0,00
5	16	15	18	16,33
6	43	49	50	47,33
7	68	72	75	71,67
8	93	97	94	94,67
9	100	100	100	100,00