

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ESCUELA DE POSGRADO



UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS

MENCIÓN: GESTIÓN AMBIENTAL

TESIS:

**EFFECTO DE TRES CONCENTRACIONES DE KOMBUCHA EN LAS
CARACTERISTICAS MORFOESTRUCTURALES DEL MICELIO DEL
Oídium farinosum Cooke.**

Para optar el Grado Académico de

MAESTRO EN CIENCIAS

Presentada por:

Bachiller: LIVIA DEL PILAR MIRANDA TORIBIO

Asesor:

Dr. MANUEL SALOMÓN RONCAL ORDÓÑEZ

Cajamarca – Perú

2019

COPYRIGHT © 2019 by
LIVIA DEL PILAR MIRANDA TORIBIO
Todos los derechos reservados

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ESCUELA DE POSGRADO



UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS

MENCIÓN: GESTIÓN AMBIENTAL

TESIS APROBADA:

**EFFECTO DE TRES CONCENTRACIONES DE KOMBUCHA EN LAS
CARACTERÍSTICAS MORFOESTRUCTURALES DEL MICELIO DEL
Oídium farinosum Cooke.**

Para optar el Grado Académico de

MAESTRO EN CIENCIAS

Presentada por:

Bachiller: LIVIA DEL PILAR MIRANDA TORIBIO

JURADO EVALUADOR

Dr. Manuel Salomón Roncal Ordóñez.
Asesor

Dr. Berardo Escalante Zumaeta
Jurado Evaluador

M. Cs. Segundo Tafur Santillán
Jurado Evaluador

Dr. Marcial Hidelso Mendo Velásquez
Jurado Evaluador

Cajamarca – Perú

2019



Universidad Nacional de Cajamarca
LICENCIADA CON RESOLUCIÓN DE CONSEJO DIRECTIVO N° 080-2018-SUNEDU/CD

Escuela de Posgrado
CAJAMARCA - PERU

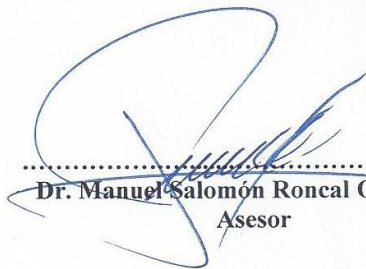



PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

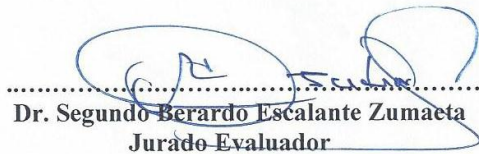
Siendo las *quince* horas del día 20 de diciembre de Dos Mil Diecinueve, reunidos en el Auditorio de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, el Jurado Evaluador presidido por el **Dr. MARCIAL HIDELSO MENDO VELÁSQUEZ**, **Dr. SEGUNDO BERRADO ESCALANTE ZUMAETA**, M.Cs. **SEGUNDO MEDARDO TAFUR SANTILLÁN**, y en calidad de Asesor el **Dr. MANUEL SALOMÓN RONCAL ORDÓÑEZ**. Actuando de conformidad con el Reglamento Interno y el Reglamento de Tesis de Maestría de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, se dio inicio a la Sustentación de la Tesis titulada: **EFFECTO DE TRES CONCENTRACIONES DE KOMBUCHA EN LAS CARACTERÍSTICAS MORFOESTRUCTURALES DEL MICELIO DEL *Oidium farinosum* Cooke**, presentada por la Bach. En Agronomía LIVIA DEL PILAR MIRANDA TORIBIO.

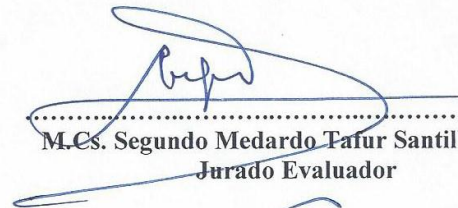
Realizada la exposición de la Tesis y absueltas las preguntas formuladas por el Jurado Evaluador, y luego de la deliberación, se acordó..... *aprobar*..... con la calificación de *diecisiete (17)*..... la mencionada Tesis; en tal virtud, la Bach. En Agronomía LIVIA DEL PILAR MIRANDA TORIBIO, está apta para recibir en ceremonia especial el Diploma que la acredita como MAESTRO EN CIENCIAS, de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Ciencias Agrarias, con Mención en **Gestión Ambiental**.

Siendo las *diecisiete* horas del mismo día, se dio por concluido el acto.


.....
Dr. Manuel Salomón Roncal Ordóñez
Asesor


.....
Dr. Marcial Hidelso Mendo Velásquez
Jurado Evaluador


.....
Dr. Segundo Berardo Escalante Zumaeta
Jurado Evaluador


.....
M.Cs. Segundo Medardo Tafur Santillán
Jurado Evaluador

A:

Dios, por fortalecer cada minuto de mí mi vida profesional, a mis padres desde el cielo intercedieron ante el majestuoso, a mis hijas que son el motor de mi vida.

Lista de figuras

Figura 1. Terminales de manzano con oidiosis.....	13
Figura 2. Distribución de la oidiosis del manzano.....	13
Figura 3. Oidiosis en pétalos de manzano.....	14
Figura 4. Decoloración, enanismo atrofiado y torsión de pétalos de manzano.....	14
Figura 5. Fruto joven con hendidura.....	14
Figura 6. Fruto de manzano con oidium.....	14
Figura 7. Cuerpo fructífero del hongo del té, suspendido en agua de té endulzado.....	30
Figura 8. Kombucha concentrado y las diluciones.....	31
Figura 9. Hojas de manzano recolectadas para ser llevadas al laboratorio.....	40
Figura 10. Evaluación de del efecto de kombucha en hojas manzano.....	46
Figura 11. Evaluación de del efecto de kombucha en hojas manzano.....	46
Figura 12. Evaluación de del efecto de kombucha en hojas manzano.....	47
Figura 13. Evaluación de del efecto de kombucha en hojas manzano.....	47
Figura 14. Longitud del revestimiento en cm del micelio de <i>O. farinosum</i> , evaluados después de la aplicación de los tratamientos en 10 hojas de manzano, repetición I.....	49
Figura 15. . Longitud del revestimiento en cm del micelio de <i>O. farinosum</i> , evaluados después de la aplicación de los tratamientos en 10 hojas de manzano, repetición II.....	50
Figura 16. Longitud del revestimiento en cm del micelio de <i>O. farinosum</i> , evaluados después de la aplicación de los tratamientos en 10 hojas de manzano, repetición III.....	51

Lista de tablas

Tabla 1. Análisis de varianza.....	28
Tabla 2. Operacionalización de los componentes de la hipótesis.....	29
Tabla 3. Variables, niveles y tratamientos en estudio.....	30
Tabla 4. Descripción de la observación visual del micelio en hojas de manzano.	32
Tabla 5. Descripción de la observación microscópica de las estructuras del micelio.....	32
Tabla 6. Matriz de la investigación.....	42
Tabla 7. Medidas de la longitud del revestimiento en cm del micelio antes de la aplicación de los tratamientos.	43
Tabla 8. Medidas de la longitud del revestimiento en cm del micelio, en 10 hojas de después de la aplicación de tratamientos en la repetición I.....	42
Tabla 9. Medidas de la longitud del revestimiento en cm del micelio, en 10 hojas de después de la aplicación de tratamientos en la repetición II.....	44
Tabla 10. Medidas de la longitud del revestimiento en cm del micelio, en 10 hojas de después de la aplicación de tratamientos en la repetición III.....	44
Tabla 11. Descripción de la observación visual del micelio en hojas, de manzano, evaluado después de la aplicación de los tratamientos.....	48
Tabla 12. Análisis de varianza del efecto de los tratamientos contra el <i>O. farinosum</i> en hojas de manzano, repetición I.....	48
Tabla 13. Análisis de varianza del efecto de los tratamientos contra el <i>O. farinosum</i> en hojas de manzano, repetición II.....	49
Tabla 14. Análisis de varianza del efecto de los tratamientos contra el <i>O. farinosum</i> en hojas de manzano, repetición III.....	50

GLOSARIO

Ácidos. Compuestos que contienen uno o varios átomos de hidrogeno sustituibles, parcial o totalmente por un metal (Anónimo 1952).

Ácido Acético. Oxidación del alcohol y la adición del oxígeno (Brown 2004).

Alcohol Etilico. Cuerpo neutro derivado de un carburo, produciendo un aldehído posteriormente un ácido (Brown 2004).

Azúcares. Hidratos de carbono caracterizado por su sabor dulce se clasifican el glucosa y sacarosa (Garritz y chamuzo 1994).

Catalizar. Causar o provocar un proceso o una reacción (Anónimo 1952).

Crecimiento. Incremento cuantitativo, cambios cuantitativos en la planta, como son, incremento de materia seca o fresca, altura de planta, grosor de tallos, número de tallos, hojas, frutos, etc.; cantidad de ciertas sustancias específicas como proteínas, carbohidratos, grasas, etc. (Seminario 1993).

Desarrollo. Cambios cualitativos ordenados que se producen en una planta y que le permiten pasar de un estado a otro, a menudo (aunque no siempre) hacia un estado superior, más ordenado o más complejo (Bidwell 1990).

Desnaturalización. Cambio estructural de las proteínas o ácidos nucleicos, donde pierden su estructura nativa, funcionamiento y a veces también cambian sus propiedades físico-químicas (Cerrato y Alarcón 2007).

Dextrina. Sustancia sólida, gomosa y soluble que se obtiene del almidón por la acción de los ácidos (Anónimo 1952).

Diastasas. enzima de origen vegetal que se encuentra en determinadas semillas y plantas, se encarga de catalizar la hidrólisis, primero del almidón en dextrina e inmediatamente después, en azúcar o glucosa (Anónimo 1952).

Esteres. Es la acción de los ácidos sobre el alcohol etílico definido como la eterificación.

Fermentación. Transformación de materias orgánicas a químicas (Cerrato y Alarcón 2007).

Jabón. Fabricado a base de sosa mediante la saponificación de los cuerpos grasos por la sosa para la fabricación de jabones (Anónimo 1952).

Kombucha. Bebida fermentada a base de té o infusión azucarado (Günter 1991).

Medida de acidez. El pH indicativo de acidez o alcalinidad de una solución acuosa, se define como el logaritmo negativo de la concentración de iones hidrógeno en moles por litro, el valor de pH es de 1 a 14, que indica la concentración de iones hidrógeno presentes en una solución acuosa (Brown 2004).

Oídium. Hongo de la clase de los Ascomiceto (Ames 1974).

Oídio. Enfermedad causada por el hongo Oidium (Ames 1974).

Oidiosis. Enfermedad de las especies vegetales llamado también Oidium (Ames 1974).

Russeting. Efecto, que aparece en los frutos de ciertas variedades de peras y manzanas, que conduce a la depreciación visual de la calidad (Brown 2004).

Simbiosis. Interacción entre dos organismos que viven en íntima asociación o aun entre dos organismos distintos (Cerrato y Alarcón 2007).

Zimasa. Enzima capaz de producir su principio activo que le permite metabo (Garritz y chamuzo 1994).

Morfología. Los hongos pueden crecer como mohos o como levaduras. Algunas especies son dimórficas, es decir a temperatura de 37 °C (temperatura corporal) son capaces de crecer como levaduras, y a 25°C (temperatura ambiente) se desarrollan como mohos (Cerrato y Alarcón 2007).

AGRADECIMIENTOS

Manifiesto mi sincero agradecimiento a:

Dios que permitió realizar alcanzar mi propósito.

Al Doctor Manuel Salomón Roncal Ordoñez por su apoyo incondicional en la conducción y culminación del presente trabajo de investigación.

A la Universidad Nacional de Cajamarca, por otorgar las facilidades, el espacio y material biológico para el desarrollo del presente trabajo de estudio.

A mi familia y amigos que me apoyaron a cumplir con las metas trazadas

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto de tres concentraciones de kombucha en las características morfoestructurales del micelio del *Oídium farinosum* Cooke, la investigación se instaló bajo el diseño Completo Randomizado, con cuatro tratamientos y tres repeticiones. Los tratamientos, representados por kombucha concentrado, diluciones 1/10 y 1/100, la evaluación respectiva se realizó después de la aplicación del tratamiento de kombucha concentrado, dando como resultado la desnaturalización de hifas, oidióforo y oidiosporas del patógeno siendo observados microscópicamente ocurriendo la muerte del follaje de la planta. En el tratamiento con la dilución 1/10, tuvo un efecto similar al kombucha concentrado sobre la morfoestructura del hongo, sin embargo no se observó daño en el follaje del hospedero en cambio, con la dilución 1/100, se reportó que no efecto en la morfología del micelio del hongo, tampoco en la alteración de hifas, oidióforos y oídios del hongo, al igual no se presentó daños en el hospedero, pero se observó el progreso de la fitoenfermedad.

Palabras claves: Kombucha, control, *Oídium farinosum*.

ABSTRACT

The present work was to determine the effect of three concentrations of kombucha on the morphostructure characteristics of the mycelium of the *Oidium farinosum* Cooke, the research was installed under the Full Randomized design, with four treatments and three repetitions. The treatments, represented by concentrated kombucha, dilutions 1/10 and 1/100, the respective evaluation was carried out after the application of the concentrated kombucha treatment, resulting in the denaturation of hyphae, oidophore and oidiospores of the pathogen being observed microscopically occurring the death of plant foliage. In the treatment with the 1/10 dilution, it had an effect similar to the concentrated kombucha on the morphostructure of the fungus, however no damage was observed in the foliage of the host instead, with the 1/100 dilution, it was reported that it did not affect the mycelium morphology of the fungus, not even in the alteration of hyphae, oidióforos and oídios of the fungus, likewise there was no damage to the host, but the progress of the phyto-disease was observed.

Key Word: Kombucha, control, *Oidium farinosum*.

ÍNDICE

Pg.

CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN	1
1.2 Planteamiento del problema	2
1.3 Justificación e importancia	4
1.4 Delimitación de la investigación	5
1.5 Limitación.....	5
1.6 Objetivos.....	5
CAPÍTULO II.....	6
MARCO TEÓRICO	6
2.1. Antecedentes de la investigación.....	6
2.2 Marco doctrinal.....	7
2.3 Marco conceptual.....	9
CAPÍTULO III.....	28
MARCO METODOLÓGICO	28
3.1 Ubicación geográfica de la investigación	28
3.2 Métodos de la investigación.....	28
3.3 Hipótesis.....	29
3.4 Diseño de la investigación	29
3.5 Población, muestra, unidad de análisis y unidades de observación.....	32
3.6 Técnicas e instrumentos de recopilación de información	33
3.7 Materiales de la investigación	41

3.8 Matriz de consistencia metodológica	42
CAPÍTULO IV	43
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
4.1. Resultados de la investigación.....	43
4.2. Discusiones de la investigación.....	51
CAPÍTULO V	52
CONCLUSIONES.....	52
CAPÍTULO VI.....	53
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS.....	53
CAPÍTULO VII	56
ANEXOS.....	56

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La oidiosis, en manzano (*Malus communis* L.), producido por el patógeno denominado parásito obligado *Oídium farinosum* García. (2008), se desarrolla en condiciones ambientales favorables a humedad relativa de 51 - 60 %. Bazán y Roncal (2015), y a temperatura de 14 - 18 °C García. (2008), prosperando en hojas, yemas, brotes, flores y fruto Agrios. (1996), la enfermedad se incrementa debido a la aplicación de fertilizantes nitrogenados, abonos con alta concentración de nitrógeno, conduciendo realizar tratamientos químicos a base de azufrados, oxiclورو de cobre e hidróxido de calcio. Fernández (1978). Cajamarca presenta condiciones ambientales favorables para el desarrollo de *O. farinosum*, manifestando susceptibilidad los plantones de manzano en vivero y campo, implicando controlar con agroquímicos, trayendo como consecuencia el incremento de nuevas razas fisiológicas, de fitopatógenos y la alteración del medio ambiente. Gomero (1991). Con la finalidad de controlar esta fitoenfermedad y mantener el equilibrio ambiental, se realizó la presente investigación, usando diferentes concentraciones de kombucha para reportar como se afecta las características morfoestructurales del micelio de *O. farinosum*, basada en el trabajo de investigación en condiciones “*in vitro*”, reportado por Miranda y Roncal (2014).

1.2 Planteamiento del problema

1.2.1. Contextualización

La oidiosis, que afecta al manzano (*Malus communis* L.), es producido por el parásito obligado *Oidium farinosum* Cooke, esta fitoenfermedad se desarrolla en condiciones ambientales favorables a una humedad relativa de 51 % y 60 %, y a una temperatura de 14 °C a 18 °C; la incidencia y severidad de la enfermedad aumenta debido a la aplicación de fertilizantes nitrogenados y abonos con alta concentración de nitrógeno, características que han conducido a realizar tratamientos de azufrados; los más usados, son los fungicidas polisulfuro de cálcico, sulfato de cobre, oxiclورو de cobre e hidróxido de cobre (Fernández 1978, p. 66).

El distrito de Cajamarca presenta condiciones ambientales favorables para el crecimiento y la proliferación de *O. farinosum*, prosperando con frecuencia en diferentes hospederos, desde hierbas espontaneas hasta árboles.

En viveros y campos frutícolas se procura cultivar manzanos libres de la enfermedad de *O. farinosum*, con el afán de conseguir lo antes mencionado se realizan tratamientos utilizando diferentes agroquímicos de expendio en las agroveterinarias de la urbe de Cajamarca. El uso de estos productos ha traído como consecuencia el incremento de nuevas razas fisiológicas, asociados al ataque de otras plagas y enfermedades; como la presencia de arañas y ácaros afectando el área fotosintética de la planta disminuyendo la producción (Gomero 1991, p. 142).

Teniendo en cuenta la corriente ecológica, basada en el uso de productos orgánicos y la minimización de la contaminación ambiental, se organizó la presente investigación, con

la finalidad de controlar la oidiosis del manzano utilizando tres concentraciones de kombucha, tomando en cuenta como base científica a la tesis titulada "Propiedades antagónicas de kombucha a fitopatógenos fungosos en condiciones "In vitro" (Miranda y Roncal 2014, p.52).

1.2.2. Descripción del problema

En Cajamarca la enfermedad del *O. farinosum*, es particularmente significativo en plantas jóvenes de manzano, manifestándose principalmente en hojas, yemas, brotes, flores y fruto, afectando la formación y desarrollo del manzano, al mismo tiempo retarda el proceso de formación del monte frutal (Romero 1998, p.119).

Para Vásquez (1990) "la enfermedad del *O. farinosum*, retarda la formación de la planta, logrando ser una vía de propagación de la enfermedad, este patógeno para ser controlado, requiere de frecuentes aplicaciones de funguicidas perjudicando la formación y desarrollo del manzano" (p.56).

Con el propósito de evitar la incidencia y severidad de esta enfermedad se organizó la presente investigación usando tres concentraciones de kombucha en el control morfoestructurales del micelio del *O. farinosum*, en manzano.

1.2.3. Formulación del problema

A nivel internacional y nacional no existen reportes del comportamiento de kombucha como controlador de fitopatógenos, la inquietud de reportar el efecto de kombucha contra *O. farinosum*, en manzano, será el indicio para la recomendación del uso de kombucha.

Pregunta general

¿Cómo afecta tres concentraciones de kombucha, en las características morfoestructurales del micelio de *Oidium farinosum* Cooke?

1.3 Justificación e importancia

1.3.1. Justificación científica

Científicamente, esta investigación, genera los primeros reportes del comportamiento de kombucha en el control de *O. farinosum* en manzano, considerado de bajo costo económico, producto orgánico que no altera el medio ambiente. Por ello se redacta la información obtenida para el conocimiento de los interesados en controlar la oidiosis en manzano, limitando el uso de agroquímicos convencionales y así contribuir con el propósito de la recuperación y equilibrio ecológico y ambiental.

1.3.2. Justificación técnica-práctica

La presente investigación, proporciona información científica inédita sobre kombucha en el campo de la agricultura, basándonos en el comportamiento de kombucha, en el control de *O. farinosum* en manzano. El estudio y análisis de la investigación permitirá ser perfeccionado, para dar mayor oportunidad de su uso como controlador orgánico no solo frente a *O. farinosum*, sino frente a otros fitopatógenos presentes en diferentes especies vegetales.

1.3.3. Justificación institucional y personal

La Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, capacitan profesionales con el propósito de realizar investigaciones científicas, cuyos conocimientos tengan repercusión en diferentes actividades que se desarrollan en la

región Cajamarca. A través de la presente investigación, se pretende reportar a kombucha como controlador orgánico de la fitoenfermedad de la oidiosis en manzano.

1.4 Delimitación de la investigación

Esta investigación se desarrolló, a nivel de campo y laboratorio; a nivel de campo se realizó fumigaciones de tres concentraciones de kombucha: kombucha concentrado y las diluciones 1/10 y 1/100, sobre el signo del *O. farinosum*, en hojas de manzano, evaluadas después de la aplicación. A nivel de laboratorio se verificó el efecto de kombucha a través de observaciones microscópicas, de la estructura de hifas, oidióforo y oidiosporas del patógeno.

1.5 Limitaciones

La presente investigación es inédita, no se reportan antecedentes de uso y aplicación de kombucha como controlador de fitopatógenos a nivel de campo. Sin embargo, existen antecedentes como inhibidor y antagonico en el desarrollo y crecimiento de fitopatógenos radicales y foliares en condiciones "*In vitro*".

1.6 Objetivos

1.6.1. Objetivo general

Determinar el efecto de tres concentraciones de kombucha en las características morfoestructurales del micelio del *Oidium farinosum* Cooke.

1.6.2. Objetivo específico

Determinar el efecto de tres concentraciones de kombucha en la diferenciación, del crecimiento y desarrollo de hifas, oidióforos y oidiosporas del *Oidium farinosum* Cooke.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

La enfermedad de la oidiosis se originó en América, causando daño al cultivo de la vid extendiéndose luego a diferentes especies vegetales. "Las diferentes especies del género *Oidium* tienen comportamiento de ectoparásitos obligados, debido a que no prosperan en medios de cultivo sintético" (Charles 1965, p. 33). "El *Oidium*, afecta a todas las partes jóvenes de la planta, a simple vista en los órganos afectados del hospedero se observa un micelio blanco sobre el área afectada del cultivo se trata de un ectoparásito, que vive en la parte externa de los órganos del cultivo, introduciendo unas estructuras llamadas haustorios para absorber alimento de la epidermis del hospedero, todo el micelio es fácilmente desprendibles por la lluvia y las esporas fácilmente diseminadas por el viento, estos patógenos prosperan en yemas, flores, hojas y frutos" (Pierre 1994, p. 221). Las plantas infectadas se caracterizan por una reducción de la fotosíntesis y la transpiración, para controlar esta enfermedad se realizan aplicación de fungicidas en el momento del riego.

Ames (1974) aduce "*Oidium farinosum* Cooke, se presenta afectando a los cultivos susceptibles en tres fases, la primera corresponde al estado de latencia, donde el hongo pasa el invierno en forma de micelio, en el interior de las yemas afectadas del cultivo; la segunda fase se muestra como micelio, donde se diferencia hifas, oidióforos y oidiosporas, contaminando flores, brotes, hojas y la tercera fase, concierne a la dispersión de oidiosporas infectando a órganos del vegetal, las estructuras somáticas de las diferentes

especies de Oídium, corresponden a un oidióforo unicelular que por la diferenciación de oidiosporas en el interior del oidióforo semeja a que este sea bi y tetracelular" (p. 86). "Las oidiosporas catenuladas son cilíndricas de mayor diámetro que las células del oidióforo, como parásitos obligados, son altamente virulentos y específicos, se alimentan de un mínimo de células superficiales de la epidermis del cultivo por intermedio de sus haustorios proliferando hifas que asfixian las células del hospedero, la patogénesis lo realiza a través de toxinas que emite el hongo, que fácilmente difunden en los tejidos del hospedero" (Charles 1965, p. 101). "Taxonómicamente el género Oídium pertenecen al Reino: Fungí; División: Ascomycota; Clase: Ascomycetes; Orden: Erysiphales; Familia: Eryphaceae; Genero: Oídium (Charles, 1965, p. 36).

2.2 Marco doctrinal

Dentro de las teorías particulares en el campo de la ciencia, podemos referir a:

Fernández (1978), afirma en referencia al Oídium "... esta enfermedad fue determinada a fines del siglo pasado, en los Estados Unidos, posteriormente extendiéndose en toda América, Las oidiosis en américa se manifiestan inicialmente en plantas jóvenes recién instaladas, para luego cubrir toda el área de la plantación" (p. 67). La enfermedad de oidiosis reportado en Uruguay en la forma imperfecta se denomina *O. farinosum* Cooke, a nivel mundial se han reportado las formas perfectas denominadas *Podosphaera leucotricha* (E y E) Salm., y *Podosphaera oxycanthe* (D.C.) de By., enfermedad que ataca superficialmente a los órganos de la planta, se observa un micelio blanco. Los fruticultores de los valles interandinos del norte del Perú para obtener cosechas rentables de este frutal realizan fumigaciones preventivas con productos químicos a base de cobre y azufre,

obteniendo resultados diversos, con cosechas delimitada, pérdida económica (Roncal 2004, p. 65).

Barbancik (1954) prescribió "kombucha se originó en Corea, en la época del imperialismo asiático, un médico amante de la naturaleza llamado Kombu", en una de sus visitas a la casa real del emperador Inkyo, Kombu obsequio la bebida refrescante al emperador saboreando placenteramente que quedó prendado de su sabor, a partir de ese momento se convirtió en un gran "kombuchista", recomendando la bebida en todo su imperio, la azaña se extendió rápidamente adoptando el nombre de "Kombucha", en homenaje al médico Kumbu" (p. 310). Los médicos chinos guardaban el hongo de la inmortalidad y longevidad en secreto, pero fue en vano porque cualquier persona que tenía la bebida lista en reposo por varios días, se percataban que en la superficie prosperaba un cuerpo blanquecino gelatinoso, que posteriormente se extendió a Rusia, Japón, Corea, la India y América.

Günter (1991) anunció que en las indagaciones científicas sobre kombucha comenzaron en los años 1950 en el Moscú en el Instituto científico "Moscow Bacteriologica Institute", como parte de un proyecto nacional de investigación sobre el cáncer, descubriendo que la masa blanquecina estaba constituida por una simbiosis de microorganismos entre levaduras del género de *Sacharomyces* y bacterias del género *Acetobacter*. En el año 1952, el médico Dubovskiy, de Instituto de Epidemiología de Kazajistán, extrajo de Kombucha la sustancia activa, medusomicetina que contiene propiedades antibióticas contra estafilococos; en el año 1956, el médico ruso Ovchinnikov comprobó mediante ensayos con conejillos de indias que la kombucha retrasa el desarrollo de la tuberculosis" (p. 44). En el año 1964, el médico alemán Sklenerin, investigó las propiedades medicinales de kombucha, introduciéndolo a la práctica medicinal natural de esa época; kombucha al ser

un producto fermentado que tras el proceso de elaboración de alcohol etílico, ácido acético, y ácido glurónico, producto de la oxidación de la glucosa, siendo los responsables de proporcionar el sabor ácido característico del té kombucha fermentado durante tres días, la bebida presenta cafeína debido a la presencia del té negro en el que crece la colonia de bacterias; contiene vitaminas del grupo B, enzimas, probióticos y aminoácidos fermentos proteasa, amilasa, catalasa que ayudan a la digestión de azúcar y aceleran el metabolismo celular (Barbancik 1954, p. 311).

2.3 Marco conceptual

2.3.1. Antecedentes de la enfermedad de Oídium

Las oidiosis en el mundo son consideradas como una de las principales fitoenfermedades que afectan a diferentes cultivos. "Los frutales de hueso y pepita son los más afectados por presentar susceptibilidad a la oidiosis, enfermedad considerada como parásito obligado debido a que no prospera en medio de cultivo sintético" (Roncal 2004, p. 56).

En los valles interandinos, los manzanos en diferente estado fenológico muestran susceptibilidad a esta fitoenfermedad, principalmente cuando la "Humedad relativa es de 52 a 61 % " Bazán y Roncal (2015), y la "temperatura promedio de 14.3 ° C; la incidencia y severidad en viveros y huertos, se hace presente desde mayo a diciembre y bajo condiciones de precipitaciones esporádica" García (2008). "La existencia de las oidiosis se remonta a la introducción de variedades susceptibles, en la actualidad es endémica en todas las regiones, debido a que se altera la fisiología de producción adecuada de fitohormonas responsables tanto de

crecimiento y multiplicación celular que repercuten en el sistema radicular y en la parte aérea de la planta" (Constantino 1966, p 176).

La fitoenfermedad se presenta en plantas establecidas en campo definitivo en días posteriores a la plantación. "La infección primaria es producida por los conidios infectando en hojas, flores y frutos jóvenes, siendo fuente del inóculo para infecciones secundarias, en su estado reproductivo sexual, típicamente desarrolla un cuerpo de fructificación denominado telomorfo, correspondiente a *Podosphaera leucotricha* Ellis & Everh, sin embargo, cuando produce múltiples cuerpos de fructificación denominados Anamórfo, correspondiente a *Oidium. farinosum* Cooke" (Agrios 1996, P. 314).

En el caso *Podosphaera leucotricha* en el estado perfecto se forma los cleistotecios contienen una sola asca donde se encuentran las ascosporas, conformado por filamentos, oidióforos y oidiosporas, que permite la conservación del hongo de un año para otro, así como su disseminación en la superficie de los órganos de los cultivos afectados, mostrando un color blanco grisáceo, el micelio observado al estereoscopio se muestra en forma de trama y poco denso. El micelio visto al microscopio, se distingue hifas septadas hialinas, de trecho en trecho aparecen las estructuras de anclaje de las cuales se diferencian los haustorios, oidióforos unicelulares en cuyo interior se diferencian, crecen y desarrollan las oidiosporas, estas cuando emergen del oidióforo forman cadenas de varias unidades, en *Oidium farinosum* Cooke en manzano forma 10 unidades (Romero, 1988, p. 120).

Manifestación de la oidiosis en manzano

El Oídium pulverulento del manzano produce síntomas en brotes, hojas, flores y frutos jóvenes. "En general, los síntomas son más notorios en hojas y frutos (Joseph y Kiyoto 1999, p. 74). "Los daños causados por *Oídium farinosum* Cooke, en los diferentes estados fenológicos de la planta tienen diferente repercusión, siempre y cuando no se hayan realizado prácticas adecuadas de control. Si esto ocurre, se aprecia muerte de los órganos de la parte aérea; previa deformación de hojas, seguida de necrosis y la consecuente defoliación (Charles 1965, p. 35). Los manzanos en viveros y campo definitivo en diferentes estados fenológicos, muestran susceptibilidad a esta fitoenfermedad, convirtiéndose preocupante en la economía del mismo. La infección de la enfermedad al superar el 40 % es cuando se aprecia detención de crecimiento y desarrollo de yemas florales, fruto, hojas terminales, finalizando con la muerte regresiva del cultivo (Roncal 2004, p. 76).

Brotos y hojas de manzano, la infección inverna en forma de micelio en hojas de las ramas y yemas terminales, conservando el inóculo para el año siguiente. "el hongo comienza a desarrollarse en los brotes terminales habitando en el tejido joven, estos "brotos de bandera infectados tienen un aspecto de color blanco tornándose gris, permaneciendo raquíuticos y desarrollándose anormalmente" (Fernández 1978, p. 68). El tejido de los brotes infectados puede presentar defoliación y crecimiento retardado, secando parte o el total del área foliar (Figura 1), a medida que avanza el crecimiento, las ramitas presentan entrenudos más cortos, y están cubiertas por un polvo blanco grisáceo, persistiendo durante la incubación del hongo. "La enfermedad en los brotes

de bandera producen inóculo, lo que provoca infecciones secundarias en las hojas".
(Constantino 1966, p 177).

"Los árboles muy infectados se debilitan y son más propensos a ser invadidos por patógenos secundarios. Las infecciones en primera instancia son en hojas, prosperando después a medida que emerge de las yemas" (Joseph y Kiyoto, 1999, p. 75). Las hojas se caracterizan por presentar al principio pequeñas manchas pulverulentas, blanquecina o grisáceas, cubriendo completamente la lámina foliar. "Las hojas que llegan a este estado detienen su desarrollo, donde se deforman, enrollan, tomando coloración amarillo naranja, provocando la muerte parcial o total de la hoja (Charles 1965, p. 36). Las infecciones en segunda instancia ocurren cuando las esporas eolatorias aterrizan en las hojas jóvenes a medida que se despliegan y se expanden formando colonias de hongos compuestos de micelio y esporas de apariencia de fondillos blancos en la superficie inferior de la hoja, detectándose en la superficie superior de la hoja como manchas cloróticas. Las hojas infectadas a lo largo del margen de la hoja pueden volverse onduladas, plegadas o dobladas tornándose quebradizas (Figura 2), las hojas son susceptibles por pocos días luego de su emergencia, pero pueden ser infectadas en cualquier momento si se producen daños mecánicos (Joseph y Kiyoto, 1999, p. 74).



Fig. 1. Terminales de manzano con oidiosis causado por *Oidium farinosum*



Fig. 2. Distribución de la oidiosis del manzano causado por *Oidium farinosum*.

Fuente (Joseph y Kiyoto, 1999, p. 74).

Flores de manzano, en la formación de las flores "Los capullos infectados tienen un aspecto gris plateado y se abren en un periodo de 5 a 8 días más tarde que los sanos, manifestando pétalos distorsionados y de color amarillo pálido o verde claro, las flores pueden encogerse y no producir frutos" (Fernández 1978, p. 68). En plantas en producción, el tratamiento para esta fitoenfermedad requiere de cuidados específicos acorde con incidencia, severidad, estado de floración y fructificación, las flores se deforman con pétalos de color verde pálido o amarillo (Figura 3)., cubiertas de micelio blanco, distorsionados los ramilletes florales volviéndoles más pequeños, los botones florales enfermos se abren una semana después de los sanos. Los síntomas de la inflorescencia incluyen decoloración, enanismo, atrofiado y torsión (Figura 4), dependiendo de la etapa en el ciclo de la enfermedad (Joseph y Kiyoto, 1999, p. 74).



Fig. 3. Oidiosis en pétalos de manzano causado por *Oidium farinosum*.



Fig. 4. Decoloración, enanismo atrofiado y torsión de pétalos.

Fuente (Joseph y Kiyoto, 1999, p 74).

Frutos de manzano, el Oídium impide su desarrollo del cuajado del fruto, deteniendo el crecimiento no llegando a la madurez, permaneciéndose pequeños, en superficie se observa una sintomatología conocida con el nombre de "russetting" (red de células corchosas), presentando un roñado y hendiduras que disminuye la calidad del mismo trayendo como consecuencia del ingreso de otras infecciones, la infección a la fruta ocurre entre pimpollo rosado, ver figuras 5 y 6 (Joseph y Kiyoto, 1999, 75).



Fig. 5. Fruto joven con hendiduras (Fernández 1978).



Fig. 6. Fruto de manzano con oidium (Fernández 1978).

Fuente (Joseph y Kiyoto, 1999, p.75).

Control de la oidiosis en manzano

El control de la oidiosis en manzano por campaña, incrementa el costo económico de la producción, si no se tiene conocimiento del momento oportuno de aplicación. "Los productos cúpricos no se deben aplicar en los periodos de floración, cuajado e inicio de crecimiento del fruto, debido a que conducen a la caída de éstos; los productos azufrados sólo se deben aplicar en periodos de días soleados para asegurar el efecto sobre el patógeno; el cobre (Cu) y Azufre (S), no tienen relevancia de ser elementos contaminantes para el hombre y los animales" (Jeremy *et al.* 2007, p. 57), sin embargo, son letales contra los microorganismos que habitan en el medio, permitiéndoles la resistencia por mutación y de esta manera contribuir con la modificación de las cadenas tróficas de los seres que conforman los ecosistemas. Siempre que sea posible, es necesario elegir variedades resistentes que se adapten a las demandas del mercado; prácticas de manejo de prevención en la reducción del inóculo de invierno cortando y quemando los brotes con síntomas de oidiosis en variedades sensibles. El control de la enfermedad se realiza para evitar las infecciones primarias, para ello se recomienda realizar tratamientos preventivos con fungicidas y productos defoliantes (Gomero, 1991, p. 83).

2.3.2. Antecedentes de kombucha

Consorcio de microorganismo de kombucha

Günther (1991) afirma "Kombucha está compuesta por un consorcio de levaduras del género *Sacharomyces* sp.," (p. 44). "Organismos unicelulares, que posee pared celular definida, constituida por carbohidratos de cadena larga la mayoría con más de 5 µm de largo, se estima alrededor de treinta especies que se multiplican en un rango de 0,876%

y 0,912%, crecen en altas concentraciones de azúcar, fue descrita, por primera vez, en 1895, por Lindner como *Sacharomyces bailii*, en el año 1983 se le dominó *Zygosaccharomyces rouxii* (Girard y Rougieux 1964, p. 134). En la actualidad se señala a *Sacharomyces* sp. Levadura que se desarrolla en un medio ácido de 2 a 3 de pH, capaz de crecer a 4 °C, llegando a tolerar hasta 70 °C en un medio con alto contenido de glucosa. Levadura osmotolerante, significa que es capaz de vivir en ambientes con elevadas concentraciones de azúcar. "Las levaduras del género *Sacharomyces*, son organismos unicelulares, que posee pared celular definida. Taxonómicamente pertenecen al: Reino: Fungí; Filo: Kingdom; División: Ascomycota; Clase: Saccharomycetaes; Orden: sacchaomycetales; Familia: sacchoromycetaceae" (Agrios, 1996, p. 314).

La bacteria del género *Acetobacter*, presenta flagelos, encargados de llevar a cabo la oxidación incompleta de alcoholes de cadena larga y de azúcares. "Esto ocurre porque cumplen con el ciclo del ácido cítrico hasta CO₂ conduciendo a la acumulación de ácidos orgánicos, como productos finales, debido a su capacidad de producir celulosa, se encuentra en el suelo en simbiosis con plantas, como plantas de caña de azúcar o café" (Brown 1886, p. 153). Es común encontrar al género *Acetobacter* en frutas podridas caídas, su habilidad excepcional para producir celulosa se ha convertido en una opción común para aquellos investigadores que estudian la biosíntesis de celulosa como modelo para estudiar el modo en que se produce la celulosa a partir de glucosa, así como también para explorar posibles aplicaciones industriales y textiles. Taxonómicamente el género *Acetobacter* por presentar flagelos, pertenece al Orden: Rhodospirillales; Familia: Acetobacteraceae; Clase: Alphaproteobacteria; Género: *Acetobacter*; Especie: Spp. (Gerard y Tortora, 1993, p. 97)

Proceso de la fermentación de kombucha

Günther (1991) menciona "kombucha, intervienen microorganismos que participan en el proceso de fermentación" (p. 45). "Después de unos días de fermentación quedan los organismos que forman el cuerpo fructífero y los demás mueren debido a la acidez y a las sustancias antibióticas que segrega la colonia para su protección contra bacterias y hongos de moho nocivos.

Ward (1991) revela "Luis Pasteur en el año 1856, las teorías científicas reconocían la presencia de levaduras en la fermentación alcohólica, pero estas levaduras eran consideradas como un producto de la fermentación, Luis Pasteur demostró que las células viables de levaduras causan fermentación en condiciones anaeróbicas (baja concentración de oxígeno); durante dicha fermentación el azúcar de las frutas como la uva es convertido en etanol y CO₂. En los años siguientes, Pasteur identificó y aisló los microorganismos responsables de la fermentación en la producción del vino, cerveza y vinagre, demostrando que, si calentaba el vino, cerveza y la leche por unos minutos, podía matar a los microorganismos y así esterilizar el producto, acción llamada pasteurización; demostrando así que las levaduras eran la causa de la fermentación y que los microorganismos podían realizar reacciones químicas complejas". (p. 153)

"Anónimo" (1952) presidió "cuando se deja expuesto al aire el zumo de uva, se va transformando poco a poco en líquido que contiene alcoholes, lo mismo ocurre en el vino expuesto al aire, a una temperatura de 20 a 30 grados, se transforma en vinagre, estas transformaciones se denominan fermentaciones" (p. 22). "Las levaduras hidrolizan, la sacarosa en fructosa, produciendo un intercambio de electrones y

protones para la producción de energía de todas las células; la acción de la coenzima donando electrones a la enzima llamada piruvato" (Kats 2012, p. 402). "Los trabajos de Pasteur han demostrado que la fermentación es debido a ciertos seres vivos microscópicos (hongos y bacterias) llamados fermentos vivos o figurados prosperando en contacto con el aire por ello se les conoce como aerobios. "Los fermentos no orgánicos llamados fermentos enzimáticos solubles, que prosperan sin aire denominados anaerobios" (Ward 1991, p. 53). "Las enzimas como la diastasa obra sobre el almidón, la invertina transforma la sacarosa en glucosa y la Zimasa encargada de transformar la glucosa en alcohol luego se produce la reducción de alcohol en forma de etanol como producto final" (Anónimo 1952, p. 23). El etanol resultante se emplea en la elaboración de algunas bebidas alcohólicas, tales como el vino, la cerveza; otros elementos como el carbono (CO₂) en forma de gas, moléculas de energía son consumidos por los propios microorganismos en su metabolismo celular energético anaeróbico.

Las bacterias convierten la glucosa en ácidos que se forma como un subproducto que disminuye el pH, ácido glucurónico, ácido ascórbico, ácido fólico, ácido acético y pequeñas cantidades de alcohol etílico, producto de oxidación de la glucosa. "Los responsables de proporcionar el sabor ácido característico del té kombucha" (Barbancik 1954, p. 310). La fructosa en ácido acético, induce la síntesis de vitaminas del grupo B, cómo el ácido fólico, que producen antibióticos, aminoácidos, proteínas, metabolitos junto al ácido úsnico" (Barbancik 1954, p. 310). La celulosa, producida por *las* bacterias del género *Acetobacter* que fue descrita por Louis Pasteur como una especie de piel húmeda, hinchada, gelatinosa y resbaladiza, casi pura que se refiere a que no

contiene sustancias extrañas, la textura es bastante única en forma de un gel; la celulosa tiene una red de fibras muy hinchada como resultado de la presencia de estructuras de poros y túneles dentro de la película húmeda, la retención de agua de la celulosa vegetal es del 60 %, mientras que la celulosa bacteriana tiene un valor de retención de agua del 100 %. La formación de la película sobrenadante, después de un período de inducción y de crecimiento rápido el espesor aumenta de forma constante debido la mitosis celular (Kats, 2012, p. 403).

Madigan (200) afirma "la composición del té fermentado presenta compuestos como polifenólicos, que le confiere propiedades antimicrobianas que previenen el cáncer, diabetes e incluso el sida" (p. 64). El proceso del ácido acético, ruta biológica de producción de ácido acético está en el orden del 10 %; siendo las bacterias fermentativas las responsables del proceso de obtención de este vinagre de calidad para la industria culinaria.

Kats (2012) menciona "durante el proceso de fermentación, las levaduras *Saccharomyces* sp., y la bacteria *Azetobacter* sp., intervienen en la transformación de la sacarosa para transformarla en fructosa, glucosa, alcohol etílico y ácidos, a las 72 horas de fermentación, el líquido es utilizado como bebida refrescante; a las 96 horas se inicia la producción ácidos (acético, ascórbico). La fermentación de la bebida se produce en periodo de una semana a una temperatura óptima entre 23 °C y los 28 °C. Se puede saber la evolución de la fermentación mediante la medida de la acidez, proceso biológico en plena ausencia de aire (oxígeno - O₂), llamado también proceso anaeróbico originado por la actividad de algunos microorganismos unicelulares (levaduras), que procesan los hidratos de carbono, como glucosa, fructosa, sacarosa y

almidón para obtener como producto final alcoholes en forma de etanol ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$) dióxido de carbono (CO_2), en forma de gas y unas moléculas de energía que consumen los propios microorganismos, en su metabolismo celular energético anaeróbico" (p. 403). "Kombucha, contiene cafeína debido a la presencia del té negro. "Kombucha es el medio donde se desarrollan colonias de bacterias y levaduras; contienen vitaminas, enzimas que descomponen los azúcares, probióticos y aminoácidos, fermentos como proteasa, amilasa, catalasa que ayudan a la digestión" (Barbancik 1954, p 311). El azúcar acelera el metabolismo celular desarrollándose las células positivamente los medios apropiados.

Beneficios de la bebida de kombucha

Los efectos curativos atribuidos al consumo diario de la kombucha es la presencia de altas concentraciones de ácido glucurónico. Ese ácido se produce de manera natural y en pequeñísima cantidad en el hígado sano, que tiene como función principal en el organismo humano es de que ayuda a la desintoxicación, extraordinariamente importante, ya que enlaza toda clase de toxinas, tanto las ambientales que invaden el organismo como las metabólicas que resultan de las funciones naturales de la digestión, una vez enlazadas por el ácido glucurónico, las toxinas pueden ser eliminadas del organismo sin ser reabsorbidas por los intestinos (Gerard y Tortora, 1993, p. 31).

Barbancik (1954), afirma... "kombucha mejora el sistema digestivo, promoviendo el crecimiento de la flora intestinal, ya que reconstituye las amistosas bacterias intestinales que son destruidas por los antibióticos o por una mala alimentación, repara células, regula los movimientos del intestino, estimula la función excretora, haciendo desaparecer el estreñimiento cura enfermedades internas del intestino grueso y delgado,

ayuda a bajar de peso, evitando la acumulación de grasas en el cuerpo del hombre" (p. 311). La digestión funciona bien cuando los recursos del organismo pueden trabajar de manera más eficiente contra infecciones.

Hay opiniones y testimonios favorables sobre las posibles ventajas del kombucha, sobre todo en humanos, como regulador del sistema digestivo; alivia dolencias, a consecuencia de artritis, mantiene saludable a la piel, diluye el ácido úrico presente en el cuerpo que es causante de la enfermedad conocida como gota, kombucha, por ser un fermento tipo sidra, es bebida agradable que se utiliza como bebida anti sed, su consumo tiene la ventaja, porque se ingiere los microorganismos integrantes vivos tanto de hongos como bacterias a quienes los científicos atribuyen influencia positiva en el sistema digestivo (Günther, 1991, p. 311).

Definición componentes presentes en kombucha

Hexosas, son monosacáridos formados por una cadena de seis átomos de carbono, su fórmula general se transcribe de la siguiente forma $C_6H_{12}O_6$, su principal función es producir energía, un gramo de cualquier hexosa produce unas cuatro kilocalorías de energías, las hexosas pueden ser aldohexosas que presenta un grupo aldehído, y las cetohechosas que presenta grupo cetona (Gomero, 1991, p. 83).

Alcaloides, se derivan de un aminoácido, por lo tanto, son nitrogenados, todos los que presentan el grupo funcional amina o imina, la mayoría de los alcaloides poseen acción fisiológica intensa en los animales incluso a bajas dosis con efectos psicoactivos, por lo que se emplean mucho para tratar problemas de la mente y calmar el dolor, ejemplos

cocaína, la morfina, la atropina la colchicina, la quinina, la cafeína, la estricnina y la nicotina (Brown 2004, p. 153).

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. Los flavonoides se encuentran presentes en las especies vegetales, las más habituales son las flavonas y flavonoles que se encargan de la protección de la incidencia de rayos ultravioleta, insectos, hongos virus y bacterias, controlan la concentración de antioxidantes, acción de las hormonas, inhibición de enzimas. (Orozco, *et al.*, 2008, p.39).

Taninos, componente que se encuentran presentes en las especies vegetales, se manifiestan de un ligero color que va desde el amarillo hasta el castaño oscuro, olor característico, sabor amargo, los taninos se extrae de las hojas y tallos flores y frutos de las plantas de donde se extrae con agua simplemente o con una mezcla de agua y alcohol, que luego se decanta y se deja evaporar a baja temperatura hasta obtener el producto final, utilizados en la actividad la medicina y la industria (Voet y Voet, 2006, p. 221).

Fitoesterol, son esteroles naturales de origen vegetal, presentes como aceites, son insolubles en agua, pero solubles en disolventes orgánicos y contienen un grupo funcional de alcohol (Orozco, *et al.* 2008, p. 39).

Estigmaesterol, es uno de un grupo de esteroles vegetales, insolubles en agua, pero solubles en la mayoría de disolventes orgánicos, aparece en las grasas o aceites de plantas medicinales, incluyendo las hierbas chinas (Anónimo 1952, p. 23).

Saponinas, es un componente que tiene la propiedad semejante a jabón: cada molécula está constituida por un elemento soluble en lípidos (esteroide) y un elemento soluble en agua (azúcar), formando una espuma cuando se las agita en agua. Las saponinas son tóxicas, y se cree que su toxicidad proviene de su habilidad para formar complejos con esteroides los que se encargan de romper las membranas de las células tras ser absorbidas obteniendo una acción irritante sobre las células produciendo la reacción expectorante, depurativa (Jeremy *et al.* 2007, p. 58).

Ácido ascórbico, es un ácido de azúcar con propiedades antioxidantes, con un aspecto es de polvo o cristales de color blanco-amarillento. Es soluble en agua conocido popularmente como vitamina C (Voet y Voet, 2006, p. 221).

Alcohol metano, conocido como un combustible, denominado alcohol más simple, disolvente a temperatura ambiente se presenta como un líquido ligero (de baja densidad) densidad), incoloro, inflamable y tóxico que se emplea como anticongelante, disolvente y combustible. Químicamente es representado de la siguiente manera CH_3OH (CH_4O) (Anónimo, 1952, p. 23).

Referencias antagónicas de kombucha

Efecto antagónico de kombucha contra *Sclerotium cepivorum* Berk. La acción antagónica del concentrado de kombucha y las diluciones 1/10, 1/100, 1/1000 destruyen filamentos inactivan esclerocios en forma proporcional. Esclerocios de *S. cepivorum* en condiciones “in vitro” se inactivan cuando la siembra de estos, se realiza en medio PDA, previamente tratados con concentrado y las diluciones 1/10, 1/100, 1/1000 de kombucha, individualmente *Sacharomyces* sp y *Zygosaccharomyces* sp., en condiciones “In vitro” ejercen limitado antagonismo

contra *S. cepivorum*; más cuando actúan juntos tienen principio antagónico, esclerocios de *S. cepivorum*, se inactivan en contacto con el concentrado de Kombucha en un intervalo de 15 a 30 minutos (Torres y Roncal, 2016, p. 40).

Propiedades antagónicas de kombucha a fitopatógeno fungosos en condiciones In vitro” sometiendo por cinco minutos el inóculo de fitopatógeno radiculares y foliares, al efecto del concentrado y diluciones 1/10, 1/100 y 1/1000, determinándose que en condiciones “in vitro” se inactivan cuando la siembra de estos, se realiza en medio PDA, previamente tratados con concentrado y las diluciones 1/10, 1/100, 1/1000 de kombucha las diluciones 1/10, 1/100, son antagónicas al inóculo de *Verticillium* sp., y *Alternaria* sp., debido a que, en este líquido, se concentra metabolitos de los microorganismos que conforman kombucha, como el ácido glucorónico, ácido acético y otros antagónicos a estos microorganismos patógenos. En cambio, el inóculo de *Fusarium* sp., en el concentrado y las diluciones respectivas permitió la germinación de esporas con la consecuente formación de micelio; con limitación para el concentrado y la dilución 1/10 (Miranda y Roncal, 2014, p.52).

Actividad antimicrobiana in vitro de los sobrenadantes de *Sacharomyces cerevisiae* y té kombucha, sobre bacterias coliformes de conejo; se determinó 13 géneros bacterianos distintos, el sobrenadante de los dos cultivos del *Sclerotium cerevisiae*, no produjo inhibición, el té verde y el sobrenadante del té kombucha inhibieron 11 de 13 microorganismos aislados, posible que la inhibición de las bacterias frente al té kombucha, sea producto de una sinergia entre el contenido del té verde con los productos metabólicos de los microorganismos presentes en el té kombucha, la marcada inhibición es atribuida a la presencia de metabolitos como el ácido acético, y

la presencia de algunas proteínas presentes en el té kombucha, mostrando un marcado efecto inhibitor in vitro frente a los géneros bacterianos identificados en los cecótrofos del conejo, comparado con los dos cultivos de *Saccharomyces*, el uso potencial del té kombucha como probiótico en la alimentación de los conejos modula la flora de los cecótrofos (Pérez y Díaz, 2012, p. 55).

2.3.3. Generalidades del té

Ochoes *et al.* (1991) reportan "el té proviene principalmente de la China difundándose posteriormente en la India, Taiwán, Japón, Nepal, Australia y América; los brotes se distinguen por su marcado contenido en polifenoles (taninos, flavonoides, teaflavina), xantinas (cafeína, teobromina y teofilina flúor), (p. 236). "aceites esenciales que son los causantes del aromas del té, los taninos, teaflavinas que son los responsables del color característico de las sustancias rojas o naranjas que contribuyen la intensidad, el brillo y el sabor del cuerpo de la infusión la dan la cafeína y las teofilinas, componentes bioquímicos que dan el gusto único y aroma característico al té negro son flúor y las teobrominas: estos compuestos integran entre 15 a 30 % de la materia seca de los brotes, variando según su contenido genético, los compuestos oxidables que se encuentra en las vacuolas de las hojas del té son las catequinas, elepigalato, que cumple un rol fundamental durante el proceso de la fermentación (Cerrato y Alarcón, 2007, p.412).

2.3.4. Antecedentes de productos naturales controladores de fitopatógenos

Concentración de alcaloides según el tiempo de cocción de granos de chocho (*Lupinus mutabilis*) y su efecto en el control de plagas en el cultivo de vainita (*Phaseolus vulgaris*), en el análisis químico del caldo de chocho se determinaron los alcaloides: 3 liupanina hidrosoluble, 4 lupinina eter y 4 hidroxilupanina; con 1.023, 1.402 y 1.402 % de alcaloides

totales en tiempos de cocción de 30, 60 y 90 minutos respectivamente. En las evaluaciones de porcentaje de supervivencia de los insectos al efecto de los insecticidas indican marcada diferencia estadística en la concentración de dosis, así se obtiene el mejor efecto de control al 100 % de concentración y a 90 minutos de cocción en la especie *Alphis gossipii* Glover con un porcentaje de supervivencia a la misma concentración y tiempo de cocción se observó en las especies *Asttylus* spp. Con 67.06 %, también a las 24 horas de aplicación. También el menor efecto de control se evaluó al 20 % de concentración y a 30 minutos de cocción, obteniéndose el mayor porcentaje de supervivencia en la especie *Asttylus* sp. Con 104.87 % a las 24 horas de la aplicación del producto siendo reportado científicamente por (Ávila y Vela. 1984, p.61).

Propóleos Cajamarquinos frente a *Cercospora* spp; *Alternaria* spp; *Oidium* spp; en condiciones *In vitro*, la acción antagónica de cuatro concentraciones de propóleos: 1/10, 1/100 y 1/1000 y la solución concentrada, de apiarios de la provincia de Cajamarca, sobre inóculos de *Cercospora* *Cercospora* spp; *Alternaria* spp; *Oidium* spp. Tuvieron comportamiento fungistático y fungicida, las concentraciones 1/10, 1/100 sobre el inóculo de cepas de *Alternaria* spp (Rojas y Roncal. 2014, p. 59).

Efecto antagónico de kombucha contra *Sclerotium cepivorum* Berk. La acción antagónica del concentrado de kombucha y las diluciones 1/10, 1/100, 1/1000 destruyen filamentos inactivan esclerocios de *S. cepivorum* en un intervalo de 15 a 30 minutos (Torres y Roncal. 2016, p. 40).

Desarrollo, elaboración y optimización bromatológica de una bebida de té negro fermentada a base de manchurian fungus (kombucha) y evaluación de su actividad como potencial alimento funcional. Haciendo uso del diseño experimental de Plackett - Burman

se logró optimizar la bebida de Kombucha, cuya formulación consistió en utilizar una concentración 0,5 M de sacarosa, 2500 ppm de té negro, 15 días de fermentación, 12500 ppm de inóculo y 3 ciclos de oxigenación de 30 minutos cada uno. Además, se evaluó la capacidad probiótica de la bebida de Kombucha frente a *E. coli*, *Salmonella gallinarum*, *Staphylococcus aureus* y *Candida*. La bebida inhibe el crecimiento de *S. aureus* y *E. coli*, más aún no inhibe el crecimiento de *Salmonella gallinarum* y *Candida* (Morales y Palomino. 2014, p. 48).

Investigación realizada en condiciones *In vitro*, “Propiedades Antagónicas de Kombucha a Fitopatógeno Fungosos (Miranda y Roncal. 2014, p.52).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación geográfica de la investigación

La investigación se desarrolló en el Distrito, Provincia y Región Cajamarca, en el vivero del Servicio Silvo Agropecuario de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, ubicada a 2752 m de altitud entre las coordenadas de 78° 27' 33'' y 78° 30' 50'' de longitud oeste entre 07° 07' 09'' hasta los 07° 10' 04'' de longitud sur.

3.2 Métodos de investigación

3.2.1. Variables

En este trabajo de investigación se aplicó la variable independiente; tres concentraciones de kombucha, como indicador donde se tiene al concentrado y diluciones a una escala cuantitativa. Como variable dependiente; se tiene a la morfoestructura del micelio de *Oidium farinosum*, como indicador es medir la longitud en cm en una escala cuantitativa.

Tabla 1. Variables, niveles y tratamientos en estudio.

Variables	Niveles	Tratamientos
Tres concentraciones de kombucha	Hojas	Concentrado, 1/10 y 1/100
Morfoestructura del micelio de <i>Oidium farinosum</i>.	Hifas	Concentrado, 1/10 y 1/100
	Oidióforos	Concentrado, 1/10 y 1/100
	Oidiosporas	Concentrado, 1/10 y 1/100

3.3. Hipótesis

Las tres concentraciones de kombucha afecta la morfoestructura de *Oidium farinosum* Cooke

3.4. Diseño de la investigación

El experimento utilizado fue el diseño completamente randomizado, con cuatro tratamientos y tres repeticiones.

3.4.1. Prueba de la hipótesis, se realiza el Análisis de varianza (ANOVA), para contrastar la hipótesis

Tabla 2. Analisis de varianza.

Fuente	Gl	SC	CM	FC	Pr > F
Tratamientos	$t - 1$	$\sum[(Y^2/r - Y^2)/(tr)]$	$S_{\text{trat}}/gl_{\text{t}}$	$S_{\text{cme}}/C_{\text{mer}}$	
Error	$t (r - 1)$		$S_t - S_{\text{trat}}$	$S_{\text{cer}}/gl_{\text{er}}$	
Total	$t r - 1$	$\sum\sum[(Y_{ij} - Y^2)/(tr)]$			

Fuente (Calzada 1982).

3.4.2. Operacionalización de los componentes de las hipótesis

Tabla 3. Operacionalización de los componentes de las hipótesis

Categoría de Variable	Variables	Definición Operacional	Indicador	Escala
Independiente	Tres concentraciones de kombucha	Kombucha (<i>Sacharomyces</i> y bacterias del género <i>Acetobacter</i>) (Günter 1991).	Kombucha concentrado, las diluciones 1/10, 1/100.	Cuantitativa
Dependiente	Morfoestructura del micelio de <i>O. farinosum</i> Cooke	Conjunto de hifas que forman la parte vegetativa de un hongo (Charles 1965).	Longitud en cm del revestimiento del micelio de <i>Oídium</i>	Cuantitativa

Preparación de kombucha

En 500 mL de agua corriente se hirvió 100 g de té (*Tea arábica*), por cinco minutos, obteniendo el líquido de color marrón amarillento, se dejó enfriar al ambiente durante 60 minutos, disponiéndose el líquido en un depósito de cristal, inmediatamente se agregó 300 g de sacarosa (azúcar comercial), colocando luego el cuerpo fructífero de kombucha, dejándolo fermentar durante siete días, en la figura 7 se muestra el cristal con kombucha.



Fig. 7. Cuerpo fructífero del hongo del té, suspendido en agua de té endulzado.

Preparación de tratamiento (kombucha concentrado, dilución 1/10 y 1/100).

Transcurrido siete días de fermentación de kombucha se preparó las diluciones motivo de experimentación (kombucha concentrado y las diluciones 1/10 y 1/100) de la siguiente forma se vertió en un matraz Erlenmeyer de 500 mL de capacidad constituyendo el concentrado de kombucha (T₁); con una pipeta se extrajo 100 mL de kombucha concentrado y se vertió en el segundo matraz que contiene 400 mL de agua destilada estéril, constituyendo la dilución 1/10 (T₂); de este se extrajo 100 mL y se vertió en el tercer matraz que contiene 400 mL de agua destilada estéril, constituyendo la dilución 1/100 (T₃); luego se vertió los tratamientos en botellas plásticas debidamente identificadas con sus respectivas etiquetas (figura 8), en campo se procedió a realizar la aplicación en las hojas de manzano infectadas con el micelio de *O. farinosum*, para luego evaluar el efecto de los tratamientos.



Fig. 7. Kombucha concentrado, diluciones 1/10, 1/100.

Descripción del micelio de *O. farinosum* Cooke.

Tabla 4. Descripción visual del micelio de *O. farinosum*, en hojas de manzano.

Clave	Patógeno en hojas del hospedero
k _{cc} + m. O.f.	Oídium en hoja de manzano
k _{1/10} + m. O.f.	Oídium en hoja de manzano
k _{1/100} + m. O.f.	Oídium en hoja de manzano
Testigo	Oídium en hoja de manzano

Descripción de las estructuras de *Oidium farinosum* Cooke.

Tabla 5. Descripción de la observación en el microscopio de las estructuras de *O. farinosum*, en hojas de manzano.

Clave	Estructura del patógeno
k_{cc} + m. O.f.	Hifas
	Oidióforo
	Oidiosporas
k_{1/10} + m. O.f.	Hifas
	Oidióforo
	Oidiosporas
k_{1/100} + m. O.f.	Hifas
	Oidióforo
	Oidiosporas
Testigo	Hifas
	Oidióforo
	Oidiosporas

3.5 Población, muestra, unidad de análisis y unidades de observación

El experimento se instaló en el vivero servicio Silvo Agropecuario el día lunes 6 de junio del 2016, este trabajo se realizó en hojas manzano infectadas con *O. farinosum*, se trabajó con cuatro tratamientos (ver la descripción en la tabla 2).

3.5.1. La Población

Para efectuar la siguiente investigación se ejecutó con una población de 84 plantas de manzano.

3.5.2. Muestra

De la población de 84 plantas de manzano se seleccionó 15 plantas infectadas con el fitopatógeno *O. farinosum* Cooke.

3.5.3. Unidades de observación

Longitud en cm del revestimiento del micelio de *O. farinosum*.

3.5.4. Unidad de análisis

Alteración de hifas, conidióforos y oidiosporas de *Oídium farinosum*, después de la aplicación de las tres concentraciones de kombucha, (kombucha concentrado y las diluciones de 1/10 y 1/100).

3.6 Técnicas e instrumentos de recopilación de información

3.6.1. Criterio de selección de hojas en estudio y técnica de la medida antropométrica

El desarrollo del experimento se realizó en 15 plantas de manzano, de estas se eligió dos ramas con 15 a 20 hojas con presencia de *O. farinosum*, evaluando la longitud del micelio, después de la aplicación de kombucha concentrado y las diluciones 1/10 y 1/100. estas fueron marcadas para su fácil identificación.

3.6.2. Criterio del análisis en laboratorio de química de la Universidad Nacional de

Cajamarca

Determinación de componentes activos de kombucha

La determinación de los componentes de kombucha se realizó en el laboratorio de química, con el apoyo del ingeniero químico Félix Hernández Clavijo.

Determinación de la densidad de kombucha: el cálculo de la densidad de kombucha se trabajó en la balanza hidrostática

Fundamento del cálculo de la densidad: se equilibró la balanza hidrostática, luego se pesó el picnómetro vacío, se procedió a pesar el picnómetro con un mililitro de agua destilada, finalmente se pesó el picnómetro con kombucha, luego se calcula la densidad de Kombucha.

Picnómetro vacío = 8.01 g (M1);

Picnómetro con agua destilada = 17.98 g (M2)

Picnómetro con kombucha = 17.75 g (M3)

$M3 - M1 = V \cdot d_k = 9.74 \text{ g}$

$M2 - M1 = V \cdot d_a = 9.97 \text{ g}$

Densidad de ambas = $\frac{9.97}{9.74} = \frac{d_a}{d_k}; 1 \text{ g}$



Peso de picnómetro con kombucha

Fundamento del análisis: se vertió kombucha en un vaso calibrado, luego se introdujo los Electrodo de Calmell, dentro del vaso gradual, se procedió a observar la lectura en el ponciometro determinando el pH = 3.2



Cálculo de pH de kombucha.

Determinación de azúcares reductores: procedimiento que permite determinar la presencia de azúcares o carbohidratos reductores en el líquido kombucha, se usó el método de Fehling.

Fundamento del análisis: en un tubo de ensayo se vertió 20 mL de kombucha, al mismo se agregó 1cm de solución de nitrato de plata, se añadió 10 mL de solución de Fehling, esta solución se flameo hasta la ebullición, posteriormente se enfrió en agua corriente agitando lentamente, formándose un espejo de plata en la base del tubo de ensayo que indica la presencia de azúcares reductores en kombucha.



Flameado



Espejo de plata

Determinación de alcaloides: para adquirir este análisis se recurrió al método de Dragendorff reactivo que permite determinar la presencia de alcaloides en kombucha.

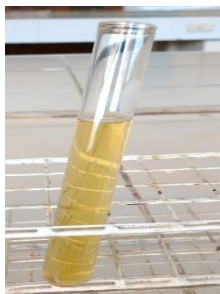
Fundamento del análisis: en un tubo de ensayo se vertió 20 mL de kombucha se agregó al mismo 1mL de cloroformo, luego se añadió 1mL del reactivo de Dragendorff, se agitó la muestra, tornándose la reacción de coloración rojiza que indica presencia de alcaloides en kombucha.



Presencia de alcaloides

Determinación de flavonoides: se realizó el método de Shinoda que permitió determinar la presencia de flavonoides en kombucha.

Fundamento del análisis: en un tubo de ensayo se vertió 20 mL de kombucha, se disminuyó el alcohol de la alícuota de kombucha con 1 mL de ácido clorhídrico, al mismo se agregó 1 cm de cinta de magnesio metálico, se dejó reposar 5 minutos, luego se añadió 1 mL de alcohol amílico agitando continuamente, se dejó reposar hasta que se separen en laminas tornándose de color de amarillo carmelita indicador de la presencia de flavonoides en kombucha.



Presencia de flavonoides

Determinación de Taninos: para determinar la presencia de taninos en kombucha se realizó el ensayo de Cloruro Férrico (FeCl_3).

Fundamento del análisis: en un tubo de ensayo se vertió 20 mL de kombucha, se añadió 1 mL de solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9 % en agua), se

añadió al mismo 1 g de acetato de sodio para neutralizar, se dejó reposar por 5 minutos, luego se añadió tres gotas de solución de tricloruro férrico al 5 % dando una coloración verde oscuro que nos indicó la presencia de taninos en kombucha.



Presencia de taninos

Determinación de esteroides: para determinar la presencia de esteroides se realizó el ensayo del método de Liberman.

Fundamento del análisis: en una pera de bromo se vertió 50 mL de kombucha, se añadió a la misma 4 gotas de vainilla, homogenizando lentamente, luego en una pipeta graduada de 10 mL se midió 1 mL de ácido sulfúrico el cual se vertió por las paredes de la pera de bromo agitando lentamente, luego se agregó 20 mL de éter de petróleo, se dejó reposar por 10 minutos, luego se observó la separación de dos capas entre ellas un anillo pardo oscuro que nos indicó la presencia de esteroides en kombucha.



Presencia de esteroides

Determinación de saponinas: para determinar la presencia de saponinas en kombucha se realizó el ensayo del método de la espuma.

Fundamento del análisis: en un tubo de ensayo se vertió 20 mL de kombucha; se disminuyó el alcohol de las alícuota de kombucha de dos a cinco veces su volumen con agua destilada, luego se agitó la mezcla fuertemente durante 10 minutos, de la muestra se observó brotar espuma que sobre salió del tubo de ensayo que persistió por más de 2 minutos, este resultado nos indicó que kombucha presenta saponinas.



Presencia de saponina

Determinación de ácidos: para la determinación de la presencia de ácidos en kombucha se realizó el método de la fenolftaleína.

Fundamento del análisis: en un vaso graduado se vertió 20 mL de kombucha, luego se realizó el proceso de filtración haciendo el uso del embudo filtrador y el papel de filtro, una vez obtenido el color transparente; en un tubo de ensayo se vertió 10 mL de muestra, se añadió al mismo 5 gotas de fenolftaleína agitándose lentamente durante 5 minutos, se añadió 1 mL de ácido sulfúrico por las paredes del tubo de ensayo agitando lentamente, tornándose de color naranja que nos indicó la presencia de ácidos en kombucha.



Filtrado de kombucha



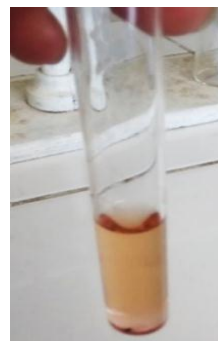
Presencia de ácido glucurónico y ascórbico

Determinación de alcoholes: para determinar la presencia de alcoholes en kombucha se realizó el método cualitativo.

Fundamento del análisis: en un vaso graduado se vertió 20 mL de kombucha, se realizó el proceso de filtración haciendo el uso del embudo filtrador y el papel de filtro, una vez obtenido el color transparente, en un tubo de ensayo se vertió 10 mL de muestra, se añadió 1 mL de ácido fosfórico por las paredes del tubo de ensayo agitando lentamente, luego se añadió una gota de permanganato, se dejó reposar durante 10 minutos, se añadió 7 gotas de la solución de sulfito de sodio desapareciendo el permanganato, luego se agregó 5 mL de solución de ácido cromotrópico, se calentó la mezcla en baño maría durante 10 minutos dando la coloración violácea que indico la presencia de metanol en kombucha.



Filtrado de kombucha



Presencia de metanol

Nota: la presencia de flavonoides, taninos, saponinas, esteroides, alcaloides, ácidos, y metanol que son elementos toxicológicos para el *O. farinosum* Cooke que conllevan a ser el producto activo de kombucha.

3.6.3. Criterio de la observación microscópica en laboratorio de fitopatología de la Universidad Nacional de Cajamarca

Para realizar los datos tomados en una unidad de análisis específica se tuvo en cuenta el requisito de que las hojas tratadas con kombucha concentrado y las diluciones 1/10 y 1/100, sean trasladadas cuidadosamente en una placa Petri al laboratorio de fitopatología donde se realizó la extracción del micelio de *O. farinosum*, colocándolo entre un porta y cubre objeto con el propósito de observar en el microscopio la estructura de hongo.

Fig. 9. Hojas de manzano tratadas con kombucha 1/100 y el testigo, recolectadas para ser llevadas al laboratorio de fitopatología.



3.6.4. Técnicas para el procesamiento y análisis de datos

Análisis estadístico

El modelo estadístico para el análisis de variancia es: $Y_{ij} = u + e_{ij}$. Calzada (1982), los datos obtenidos fueron analizados mediante el Análisis de Variancia (ANOVA) para

saber si hay diferencia entre los tratamientos en estudio se realizó una prueba de (Student) para conocer los mejores tratamientos se hizo uso de hojas de cálculo Excel, para la evaluación de resultados del procesamiento de datos se tabuló la información en cuadros y se elaboró gráficos comparativos.

3.7. Materiales de la investigación

3.7.1. Material experimental

Hojas de manzano infectadas con el micelio de *O. farinosum*, kombucha concentrado y las diluciones 1/10 y 1/100.

3.7.2. Equipos, materiales, insumos.

Material de vidrio, frasco de vidrio de 500 cm³, vasos de diferente capacidad, probeta de 100 cm³, pipetas de 10 cm³, placas Petri, porta y cubre objetos, picnómetro.

Equipo óptico, lupa, estereoscopio, microscopio y cámara fotográfica.

Material de asepsia, alcohol de 96°, hipoclorito de sodio al 5 %.

Otros materiales, tijera podadora, navajas, agujas hipodérmicas N° 25, bolsas de polietileno y de papel, agua destilada, plumón, regla graduada y papel milimetrado, balanza hidrostática, reactivos químicos.

3.8. Matriz de consistencia metodológica

Tabla 6. Matriz de la investigación

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Dimensiones	Indicadores	Instrumentos de recolección de datos	Metodología	Población y muestra
¿Cómo afectan tres concentraciones de kombucha, en las características morfoestructurales del micelio de <i>O. farinosum</i> ?	Determinar el efecto de tres concentraciones de kombucha en las características morfoestructurales del micelio de <i>O. farinosum</i> .	Tres concentraciones de kombucha, afecta la morfoestructura de	Tres concentraciones de kombucha	Kombucha concentrado y las diluciones 1/10, 1/100, en mililitros	Kombucha concentrado y las diluciones 1/10, 1/100.	Selección y medida antropométrica, análisis en laboratorio químico y fitopatológico o U.N. C. Técnicas para el procesamiento y análisis de la información.	Experimental	Población 84 plantas de manzano
	Determinar el efecto de tres concentraciones de kombucha en la diferenciación, del crecimiento y desarrollo de hifas, oidióforos y oídios		Morfoestructura del micelio de <i>O. farinosum</i> .	Longitud en cm del revestimiento del micelio.	Revestimiento del micelio.	Muestra 15 de plantas de manzano infectadas con el micelio.		

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados de la investigación

4.1.1. Presentación de resultados

- a) Longitud del revestimiento en cm del micelio de *O. farinosum*, en 10 hojas de manzano antes de la aplicación de los tiramientos de kombucha concentrado, dilución 1/10 y 1/100.

Tabla 7. Medidas de la longitud del revestimiento en cm del micelio, antes de la aplicación de los tratamientos.

Numero de hoja	Tratamientos			
	Testigo	Concentrado	(1) /10	1/100
1	0.0 cm	2.5 cm	2.8 cm	2.6 cm
2	0.0 cm	2.8 cm	2.8 cm	2.8 cm
3	0.0 cm	2.5 cm	2.5 cm	2.5 cm
4	0.0 cm	2.5 cm	2.8 cm	2.6 cm
5	0.0 cm	2.8 cm	2.8 cm	2.8 cm
6	0.0 cm	2.5 cm	2.5 cm	2.5 cm
7	0.0 cm	2.5 cm	2.8 cm	2.6 cm
8	0.0 cm	2.8 cm	2.8 cm	2.8 cm
9	0.0 cm	2.5 cm	2.5 cm	2.5 cm
10	0.0 cm	2.5 cm	2.8 cm	2.6 cm

- b) Medidas la longitud del revestimiento en cm del micelio de *O. farinosum*, en 10 hojas de manzano, evaluadas después de la aplicación de los tratamientos

Tabla 8. Medidas de la longitud del revestimiento en cm del micelio, en 10 hojas de después de la aplicación de tratamientos en la repetición I.

Numero de hoja	Tratamientos			
	Testigo	Concentrado	1/(10)	1/100
1	1.2 cm	2.5 cm	2.2 cm	2.5 cm
2	1.3 cm	2.2 cm	2.4 cm	2.2 cm
3	1.1 cm	2.6 cm	2.2 cm	2.5 cm
4	1.2 cm	2.4 cm	2.2 cm	2.6 cm
5	1.2 cm	2.6 cm	2 cm	2.5 cm
6	1.3 cm	2.5 cm	2.2 cm	2.6 cm
7	1.1 cm	2.6 cm	2 cm	2.5 cm
8	1.2 cm	2.6 cm	2.5 cm	2.6 cm
9	1.2 cm	2.5 cm	2.2 cm	2.5 cm
10	1.2 cm	2.5 cm	2.4 cm	2.5 cm

Tabla 9. Medidas de la longitud del revestimiento en cm del micelio en 10 hojas después de la aplicación de los tratamientos en la repetición II.

Numero de hoja	Tratamientos			
	Testigo	Concentrado	1/(10)	1/100
1	1.5 cm	2 cm	1.8 cm	2 cm
2	1.3 cm	1.8 cm	2 cm	2.2 cm
3	1.5 cm	2.2 cm	1.6 cm	1.8 cm
4	1.5 cm	2 cm	1.8 cm	2 cm
5	1.7 cm	1.8 cm	1.6 cm	1.8 cm
6	1.5 cm	2 cm	1.8 cm	2.2 cm
7	1.5 cm	2.2 cm	2 cm	2 cm
8	1.5 cm	2.2 cm	1.8 cm	1.8 cm
9	1.5 cm	2.2 cm	1.8 cm	1.8 cm
10	1.5 cm	2 cm	1.8 cm	2 cm

Tabla 10. Medidas de la longitud del revestimiento en cm del micelio en 10 hojas de manzano en la aplicación de la repetición III

Numero de hoja	Tratamientos			
	Testigo	Concentrado	(1) /10	1/100
1	2.5 cm	1.5 cm	1 cm	1.8 cm
2	2.6 cm	1.3 cm	1.3 cm	1.8 cm
3	2.4 cm	1.5 cm	1.1 cm	1.6 cm
4	2.5 cm	1.5 cm	0.8 cm	1.8 cm
5	2.6 cm	1.7 cm	1 cm	1.6 cm
6	2.7 cm	1.5 cm	1.1 cm	1.8 cm
7	2.6 cm	1.5 cm	0.8 cm	2 cm
8	2.2 cm	1.5 cm	1.1 cm	1.8 cm

9	2.4 cm	1.5 cm	0.8 cm	1.8 cm
10	2.5 cm	1.5 cm	1 cm	2 cm

c) En la figura 3 se muestra hojas de manzano con micelio de *O. farinosum* (a) y (b); oidiosporas del hongo (c); germinación de oidiospora (d); estructura completa del hongo conformado por hifas, oidióforo y oidiosporas en cadena (e).

En la figura 4 se observa, hoja de manzano con espacios del parénquima necrosado y desaparición del micelio del hongo por el efecto de kombucha concentrado (a), efecto que coincide con el trabajo antagónico de kombucha a fitopatógenos *Alternaria* sp, *Botrytis* spp y *Rhizoctonia solani*, en condiciones “*in vitro*” que el reporta Miranda y Roncal (2014); en (b) y (c) se aprecia el desprendimiento del citoplasma y ruptura de la pared celular y la consecuente desnaturalización y deshidratación de las oidiosporas del hongo Brock (1987); en (d) se observa deshidratación y desnaturalización de hifa, oidióforo y oidiosporas en cadena; estructura completa del hongo conformado por hifas, oidióforo y oidiosporas en cadena y sueltas (e).

En la figura 5 se aprecia la hoja de manzano con limitada formación del micelio del hongo; indicador de inhibición de germinación de oidiosporas, debido a las sustancias de comportamiento antibiótico de la dilución 1/10 de kombucha (a); en (b) y (c) se observa el desprendimiento del citoplasma de la pared celular de las oidiosporas, debido al efecto del producto; deshidratación y desnaturalización de hifa, oidióforo y oidiosporas en cadena debido al efecto de la del producto (d); estructura completa del hongo conformado oidiosis sin tratamiento (e).

En la figura 6 se observa a hojas de manzano tratadas con la dilución 1/100 de kombucha, no se aprecia el efecto antagónico, dejando desarrollar el micelio del hongo como pulverulencia blanca (a) y (b); oidiosporas aparentemente no afectadas no se aprecia alteración notoria (c); observar en la figura adjunta del patógeno normalmente

desarrollado (d); comparar con el testigo que presenta una estructura completa del hongo conformado por hifas, oidióforo y oidiosporas en cadena (e).

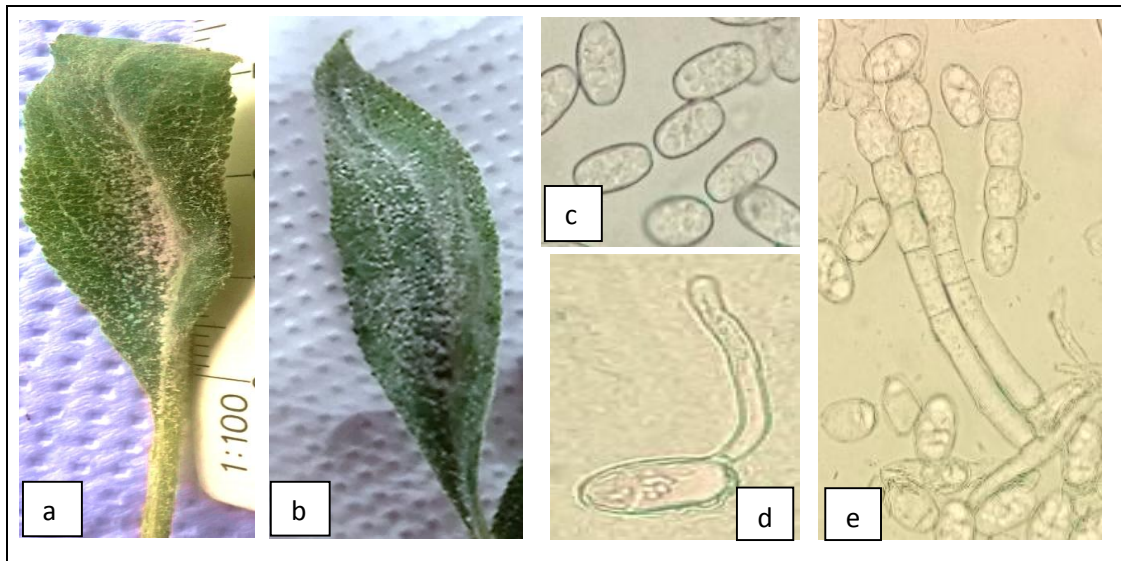


Fig. 10. Hojas de manzano con micelio *Oidium Farinosum* a) y b); oidiosporas c); oidiospora germinando d); estructura del micelio del hongo constituido por hifas, oidióforos y oidiosporas en cadena y sueltas e).

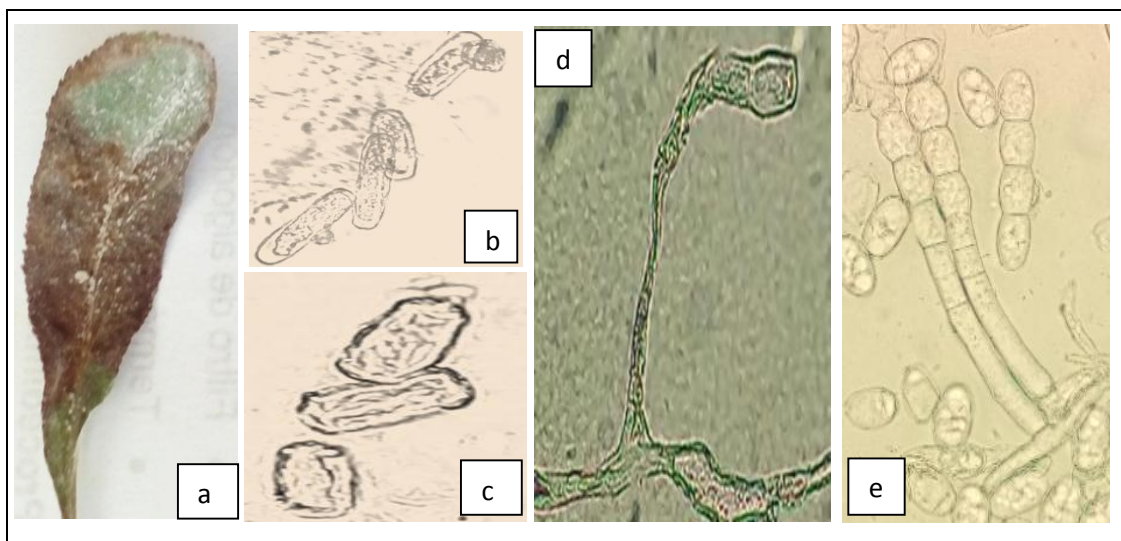


Fig. 11. Hoja de manzano necrosada por intoxicación de kombucha concentrado a); oidiosporas deshidratadas y desnaturalizadas (b, c); deshidratación y desnaturalización de hifa, oidióforo y oidiosporas en cadena (d); estructura del hongo (testigo) conformado por hifas, oidióforos, oidiosporas en cadena y sueltas (e).

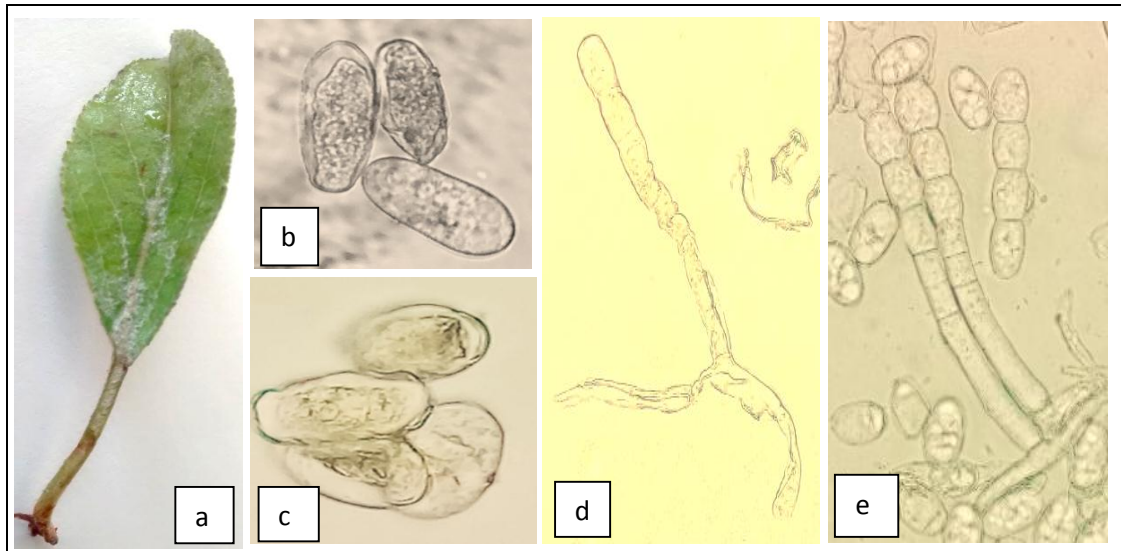


Fig. 12. Hoja de manzano con limitado micelio a); oidiosporas alteradas b); oidiosporas desnaturalizadas c); deshidratación y desnaturalización de hifa y oidióforo en cadena (d); estructura completa del hongo conformado por hifas, oidióforo y oidiosporas en cadena (e).

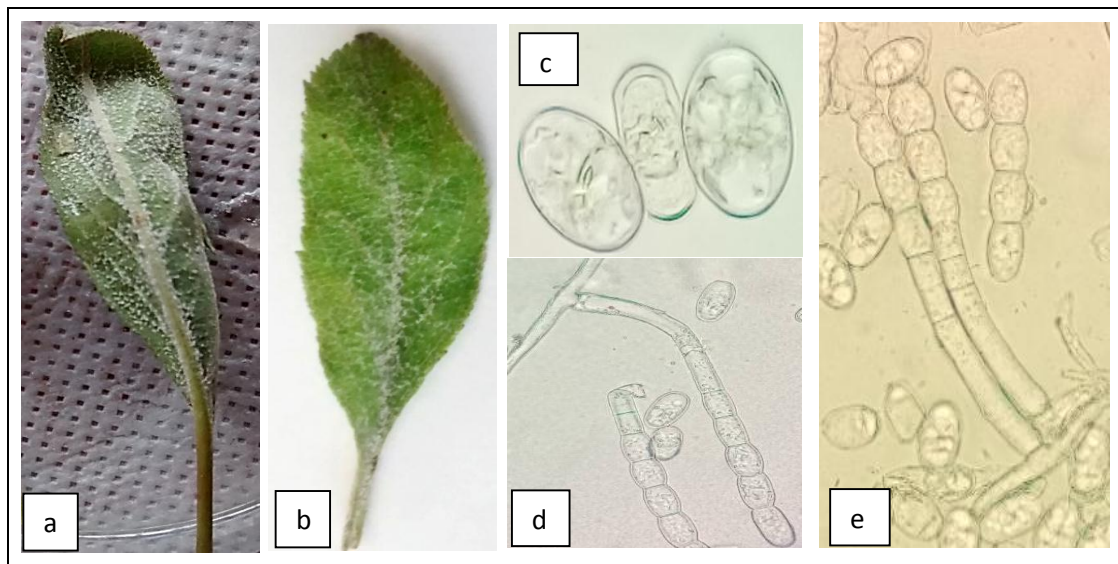


Fig. 13. Hoja de manzano con micelio b); oidiosporas con mínima deshidratación b); estructura completa del hongo conformado por hifas, oidióforo y oidiosporas en cadena d); comparar con el testigo que presenta una estructura completa del hongo e).

Tabla 11. Descripción de la observación visual del micelio de *O. farinosum*, en hojas, de manzano, evaluado después de la aplicación de los tratamientos.

Clave	Hospedero	Descripción
$k_{cc} + m. O.f.$	Hoja de manzano	Intoxicación de las células de la epidermis
$k_{1/10} + m. O.f.$	Hoja de manzano	Hoja sin presencia de micelio
$k_{1/100} + m. O.f.$	Hoja de manzano	Mínima presencia del micelio
Testigo	Hoja de manzano	Presencia de micelio en la hoja

4.1.2. Análisis, interpretación de resultados

Análisis de varianza (ANOVA)

Para analizar los datos obtenidos de las longitudes del revestimiento en cm del micelio de *O. farinosum*, se procesó los datos, tabulando de la información en cuadros de hoja de cálculo del programa Excel. Obteniendo resultados de eficacia del efecto de tres concentraciones de kombucha en las características morfoestructurales del micelio del *O. farinosum* en manzano, en tres repeticiones, evaluados después de la aplicación de los tratamientos de kombucha concentrado y las diluciones 1/10 y 1/100.

Tabla 12. Análisis de varianza del efecto de los tratamientos contra *O. farinosum*, en hojas de manzano, repetición I.

	<i>Sc</i>	<i>Gl</i>	<i>Mc</i>	<i>F.</i> <i>calculado</i>	<i>F (0.05%)</i>
Tratamientos	11.46675	3	3.82225	254.345656	2.86626555
Error	0.541	36	0.01502778		
Total	12.00775	39			

Coeficiente de variación= 39.6852

En la prueba de Student al 5% de probabilidades, para el efecto de la kombucha concentrado y las diluciones 1/10 y 1/100; son estadísticamente diferentes; de esta manera se demuestra que, durante el tiempo de evaluación de la investigación, se obtuvo resultados eficaces en el tratamiento de la dilución 1/10, en el control de la

enfermedad, debido a la adecuada concentración de alcaloides, saponinas, esteroides, ácido ascórbico y metano.

Fig. 14. Longitud del revestimiento en cm del micelio de *O. farinosum*, evaluados después de la aplicación de los tratamientos en 10 hojas de manzano, repetición I.

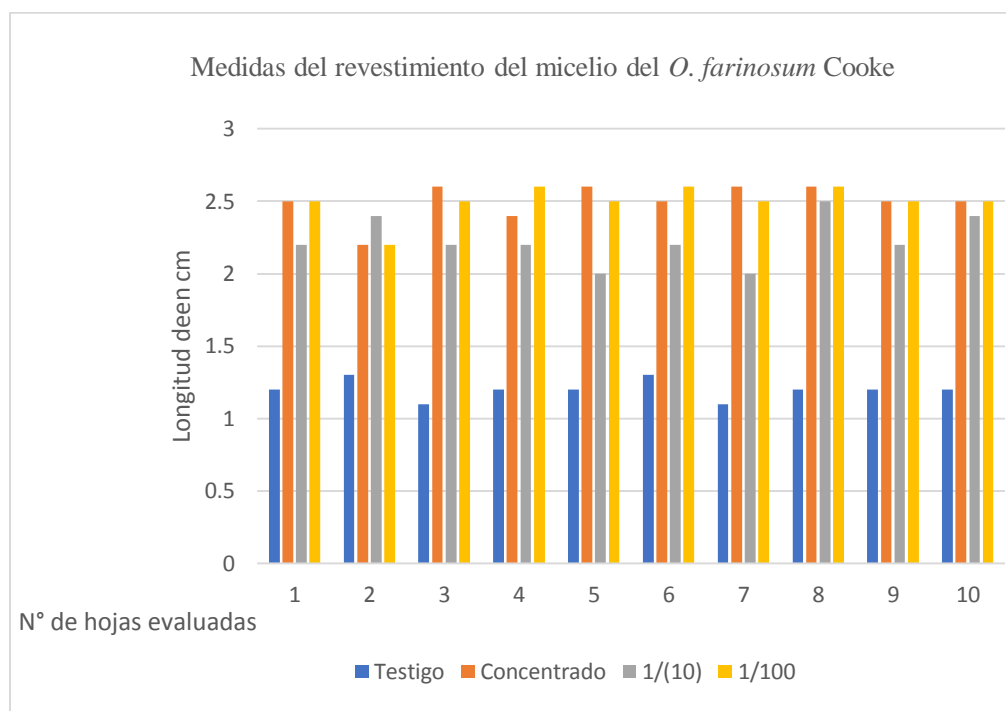


Tabla 13. Análisis de varianza del efecto de los tratamientos contra *O. farinosum*, en hojas de manzano, repetición II.

	<i>Sc</i>	<i>Gl</i>	<i>Mc</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad F (0.05%)</i>
Tratamientos	1.707	3	0.569	29.7732558	7.39723-10 2.86626555
Error	0.688	36	0.01911111		
Total	2.395	39			

Coefficiente de variación = 32.8643478

En la prueba de Student al 5% de probabilidades, para el efecto de la kombucha concentrado y las diluciones 1/10 y 1/100 contra *O. farinosum*, los resultados obtenidos en la tabulación estadística presentaron eficacia significativa en el tratamiento de la dilución 1/10, en el control de la enfermedad, debido a la adecuada

concentración de alcaloides, saponinas, esteroides, ácido ascórbico y metano, después de la aplicación de los tratamientos en 10 hojas de manzano.

Fig. 15. Longitud del revestimiento en cm del micelio de *O. farinosum*, en (cm), después de la aplicación de los tratamientos en 10 hojas de manzano, repetición II.

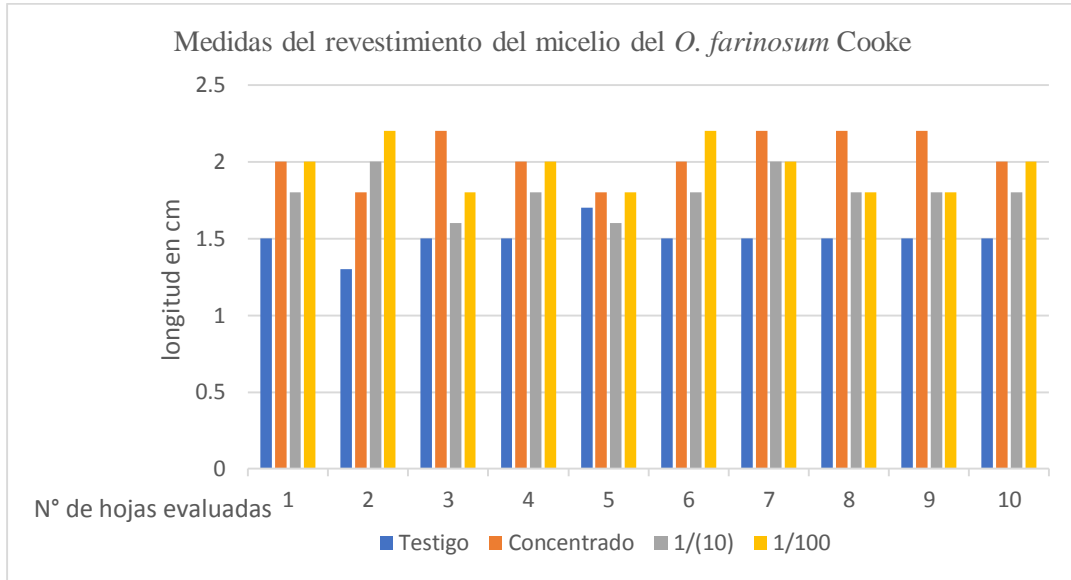


Tabla 14. Análisis de varianza del efecto de los tratamientos contra *O. farinosum*, en hojas de manzano, repetición III.

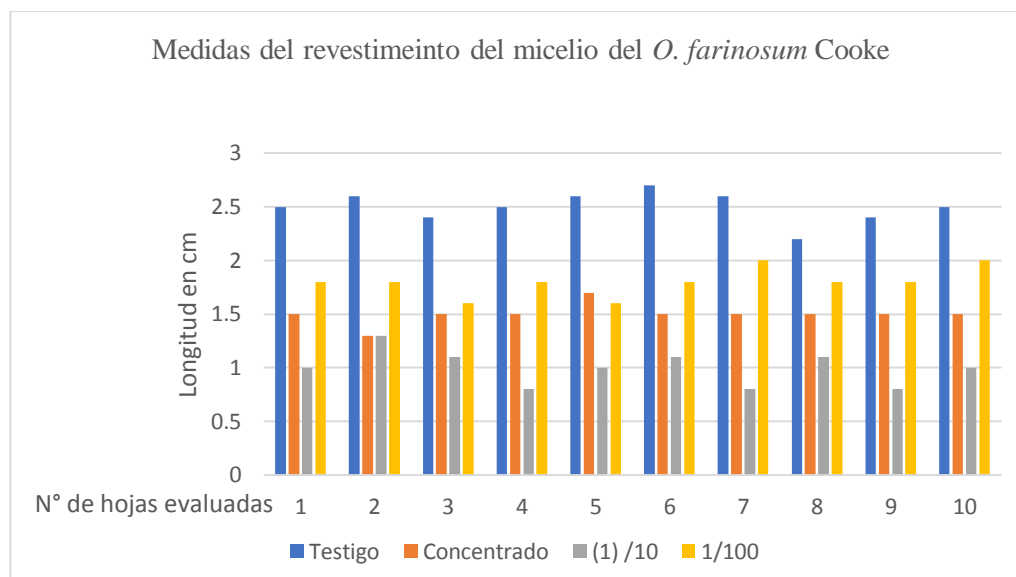
	<i>Sc</i>	<i>Gl</i>	<i>Mc</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>F (0.05%)</i>
Tratamientos	11.8	3	3.93333333	214.5454545	5.1317E-23	2.86626555
Error	0.66	36	0.01833333			
Total	12.46	39				

Coefficiente de variación = 10.102

En la prueba de Student al 5% de probabilidades, para el efecto de la kombucha concentrado y las diluciones 1/10 y 1/100; son estadísticamente diferentes, debido a que los resultados obtenidos en la tabulación estadística presentaron eficacia significativa en el tratamiento de la dilución 1/10, en el control de la enfermedad, debido a la adecuada concentración de alcaloides, saponinas, esteroides, ácido

ascórbico y metano, evaluados después de la aplicación de los tratamientos en 10 hojas de manzano.

Fig. 16. Longitud del revestimiento en cm del micelio de *O. farinosum*, en (cm), después de la aplicación de los tratamientos en 10 hojas de manzano, repetición III.



4.2 Discusiones de la investigación

A partir de los hallazgos encontrados aceptamos la hipótesis alterna donde establece que tres concentraciones de kombucha afecta la morfoestructura de *O. farinosum*.

Estos resultados guardan relación con lo que sostienen los siguientes autores Miranda (2014), en la tesis de investigación Propiedades Antagónicas de Kombucha a Fitopatógeno Fungosos y Torres (2016), en la tesis de investigación Efecto antagónico de kombucha contra *Sclerotium cepivorum* Berk, estos autores expresan que kombucha actúa como un inhibidor y antagónico a patógenos en condiciones in vitro, Ello es acorde con lo que en este estudio se ha encontrado.

En lo que no concuerda con el estudio del autor Morales (2014), en la tesis de investigación Desarrollo, elaboración y optimización bromatológica de una bebida de té negro fermentada a base de kombucha y evaluación de su actividad como potencial alimento funcional, referido con el presente estudio no existe concordancia.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

- a) El tratamiento de oidiosis del manzano con dilución 1/10 de kombucha tuvo comportamiento eficiente con la dilución 1/10, debido a que mata al hongo, no causando ningún efecto en el hospedero.
- b) La dilución 1/10 de kombucha tuvo comportamiento eficiente en la desnaturalización de hifas, oidióforos y oidiosporas del *O. farinosum*, sin efecto en el hospedero.
- c) El tratamiento de kombucha concentrado, desnaturaliza a hifas, oidióforos y oidiosporas del hongo a la vez intoxica el área foliar del hospedero.
- d) El tratamiento con la dilución 1/100 de kombucha, no afecta a hifas, oidióforos y oidiosporas del hongo, tampoco causa ningún efecto en el área foliar del hospedero.

CAPÍTULO VI

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anónimo.** 1952. Enciclopedia Autodidactica Quillet guía de enseñanza Moderna y Practicas Ed. Buenos Aires Argentina, editorial Quillet Tomo III. 22 - 23p.
- Ames, T.** 1974. Fitopatología General. Ed. Lima-Perú, editorial GMP.86p.
- Ames, T.** 1974 Fitopatología Agrícola. 2 ed. Madrid-España, editorial GMP. 78p.
- Agrios, G.** 1996. Fitopatología. 2 ed. México, editorial L. S.A. 314p.
- Ávila, E. Vela, A. 1984.** Concentración de alcaloides según el tiempo de cocción de los granos de chocho (*Lupinus mutabilis*) y su efecto en el control de plagas en el cultivo de vainita (*Phaseolus vulgaris*), Tesis. Ing. Agr. Univ. Cajamarca-Perú. Fac. Cien. Agr. 61p.
- Barbancik, GF.** 1954. “El Hongo de Té”. Ed. Rusia, editorial MG.310 - 311p.
- Bazán, E. Roncal, M.** 2014. “Etiología y Patogénesis de la Pulverulencia Gris del Poroporo (*Passiflora mollissima* (HBK) Bailey)”. Ing. Agr. Univ. Cajamarca - Perú. Fac. Cien. Agr. 34p.
- Bidwell, R.** 1990. Fisiología Vegetal. 1 ed. México, D.F. México, México. AGT Editor S.A. 74 p.
- Brock, SM.** 1987. Microbiología. España, editorial CT. 76p.
- Brown, L.** 2004. Química la ciencia central. 9ª edición. México, editorial Person 152 – 153p.
- Calzada, J.** 1982. Métodos estadísticos para la investigación. 5 ed. Perú. Editorial Milagros S.A. 134-210P.
- Cardozo, N.** 1906. Libro de té. Ed. Madrid España, editorial Runapress. 18-96p.
- Carrillo, L.** 2003. Microbiología Agrícola. Ed. Salta Argentina, editorial ISBN. 3-19P.

- Cerrato, R,** Alarcón A. 2007. Microbiología Agrícola Hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico, planta y microorganismo. Ed. México, editorial Trillas, 14- 18p.
- Constantino, JA.** 1966. Introducción a la Micología. 3ed. New York, editorial Copyright. 108- 207p.
- Curtiz, SF.** 2005. Biología. 6 ed. España, editorial PW. 736, 796, 8910p.
- Charles, Jw.** 1965. Patología Vegetal. 2ª edición. Barcelona España, editorial McGraw-Hill Book Company. 35 - 36p.
- Fernández, M.** 1978. Introducción a la fitopatología. 3 ed. Buenos Aires Argentina, editorial Plus Ultra Viamonte. 66 - 69 p.
- Gerard y Tortora.** 1993. Introducción a la Microbiología. 3ed. España, editorial A.L. 31p.
- García, J.** 2008. El Oídium de Manzano. Ed. Chile, editorial Etsea. 176p.
- Garriz, J. chamuzo, A.** 1994 Química. 2 ed. Argentina, editorial AW. 94p.
- Girard- H. Rougieux, R.** 1964. “Manual de técnicas bacteriológica. Ed. España, editorial Ariba.134p.
- Gomero, L.O.** 1991. Agroquímicos Problema Nacional Políticas y Alternativas. Ed. Lima Perú, editorial J.R. Ediciones. 142p.
- Günther, W.F.** 1991. Kombucha “Bebida Saludable y Remedio Natural del Lejano Oriente”. 1ª ed. Editorial Germania MG. 44 – 45p.
- Hans, G.** 1997. Microbiología general. Ed. Barcelona España, editorial Omega S.A. 76p.
- Illana, C.** 2007. El hongo kombucha. Ed. Madrid Españas, editorial Linux. Departamento de bilogía vegetal Facultad de Biología Universidad de Alcalá 271p.
- Hurtado, D. Merino, M.** 1987. Cultivo de tejidos vegetales. Ed. México, editorial Trillas, 15 – 97p.

- Isla, M.L.** 2004. Agricultura Deterioro y Preservación Ambiental. Ed. México, editorial Grupo Mundi Prensa. 54 – 69p.
- Jeremy, MB. John, L. Tymozko, LS.** 2007. Bioquímica. Ed. Barcelona España, editorial Reverte S.A. 57p.
- Joseph, O. Kiyoto, J.** 1999. Plagas y enfermedades de los frutales de hueso. 3 ed. Estados Unidos, editorial S.P. 74 - 75p.
- Kats, S.** 2012. El arte de la fermentación. Ed. Nueva Yorrk, editorial Conasi. 402 - 403p.
- Lamonarca, F.** 2002. Los árboles frutales. Ed. España, editorial Vecchi.199- 203p.
- Madigan, M.** 2006. Biología de los Microorganismos. 10 ed. Editorial Pearson. España. 64p.
- Mar, O.** 1998. Diccionario de Biología. 2 ed. Editorial Pearson. España. 48p.
- Miranda, L. Roncal, M.** 2014. “Propiedades Antagónicas de Kombucha a Fitopatógeno Fungos en Condiciones In vitro”. Ing. Agr. Univ. Cajamarca -Perú. Fac. Cien. Agr. 52p.
- Muñoz, F.** 2002. Plantas Medicinales y Aromáticas estudio cultivo y procesado, Primera Edición, editorial Mundi prensa, España. 365 p.
- Orozco, C; Pérez, A; Gonzales, N; Rodríguez, F; Alfayate, J.** 2008. Contaminación ambiental una visión desde la química. Ed, editorial Paraninfo España 39p.
- Pierre, B.** 1994. Enfermedades de conservación de frutos de pepita manzanas y peras. Ed. Madrid. Inrayphm- reuse 221p.
- Roncal, M.** 1993. Taxonomía de hongos fitopatógeno. Ed. Cajamarca – Perú Oficina General de Investigación de la UNC. 324 p.
- Roncal, M.** 1995. Mohos post cosecha en frutos suculentos. Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales. Cajamarca Perú. Oficina General de Investigación de la UNC. 321p.

- Roncal, M.** 2004. Principios de Fitopatología Andina. Ed. Cajamarca – Perú, Oficina General de Investigación de la UNC. 420 p.
- Roncal y Roncal.** 2015. Especificidad Patogénica y Nominación Científica del Anamórfico que Induce Oidiosis en Cultivos de la Zona Andina. Suplemento de la revista Mexicana de Fitopatología. Ed. Mexican Journal OF Phytopathology. 33 - 58p.
- Romero, C. S.** 1988. Hongos Fitopatógeno. 1ra. Ed. Universidad Autónoma de Chapingo. México. 120 p.
- Rojas, C. Roncal, M.** 2014. Actividad Antagónica de Propóleos Cajamarquinos Frente a: *Cercospora* spp; *Alternaria* spp. Y *Oidium* spp, en condiciones IN VITRO. Ing. Agr. Univ. Cajamarca -Perú. Fac. Cien. Agr. 59p.
- Seminario, J.** 1993. Terminología usada en Recursos Fitogenéticos. Universidad Nacional de Cajamarca. Cajamarca, Perú. Ed. Asociación “Obispo Martínez Compañón”. 64 p.
- Torres y Roncal.** 2016. Propiedades Antagónicas de diluciones de Kombucha contra *Sclerotium cepivorum* Berk. En condiciones “in vitro”. Ing. Agr. Univ. Naci. de Cajamarca -Perú. Fac. Cien. Agr. 40p.
- Vásquez, A.** 1990. Experimentación Agrícola. Ed. Lima – Perú. Editorial Amaru. 278p.
- Ward, O.** 1991. Biotecnología de la fermentación. Ed. Buenos Aires Argentina, editorial Acribia, S.A. Zaragoza, 53p.
- Weaver, R.** 1996. Reguladores del crecimiento de las plantas de agricultura. Ed. México, editorial Trillas, 39 – 89p.
- Voet, D. Voet, J.** 2006. Bioquímica. 3°edic. Buenos Ares- Argentina, editorial. Panamericana. 221p.

CAPÍTULO VII

ANEXOS

Reporte fotográfico del desarrollo en la investigación

Reportes antes de la aplicación de kombucha concentrado, y las diluciones 1/10 y 1/100.



Reporte de la aplicación de kombucha concentrado, y las diluciones 1/10 y 1/100.



Reporte de hojas tratadas con el de los tratamientos en estudio.



Hojas de manzano con micelio de *O. farinosum* Cooke; (testigo).



Hojas de manzano tratadas con el tratamiento kombucha concentrado.



Hojas de manzano tratadas con la dilución 1/10 de kombucha.



Hojas de manzano tratadas con la dilución 1/100 de kombucha.

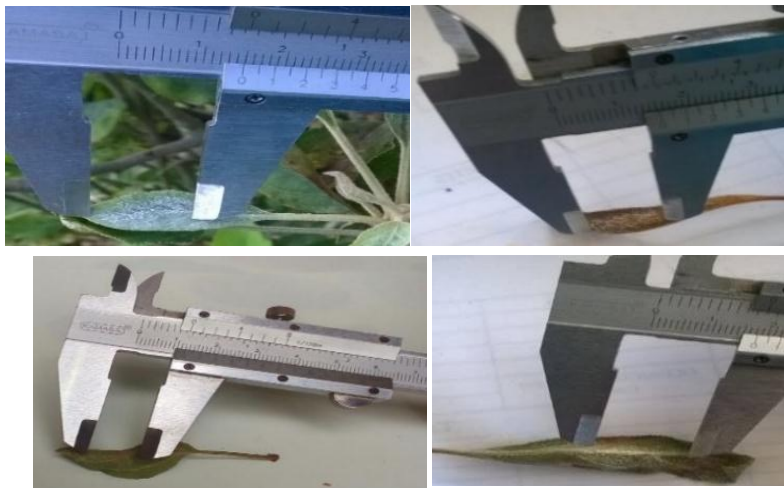
Reporte de toma de datos de hojas de manzano tratadas con los tratamientos en estudio.



Reporte de toma de datos longitud en cm del micelio de *O. farinosum*, en hojas de manzano en el testigo, kombucha concentrado y las diluciones 1/10 y 1/100, repetición I.



Reporte de toma de datos longitud en cm del micelio de *O. farinosum*, en hojas de manzano en el testigo, kombucha concentrado y las diluciones 1/10 y 1/100, repetición II.



Reporte de toma de datos longitud en cm del micelio de *O. farinosum*, en hojas de manzano en el testigo, kombucha concentrado y las diluciones 1/10 y 1/100, repetición III.



Observación de morfoestructura de hifas, oidióforos y oidiosporas de *O. farinosum*, en el laboratorio de fitopatología en la facultad de ciencias agrarias de la UNC.



Métodos de la balanza hidrostática

Para el manejo de esta balanza hidrostática analítica es preciso conocer todos sus componentes y sus respectivas funciones, para ello debemos mencionar los siguientes sistemas:

sistema de sostén, se trata de sostener todos los objetos de la pesada, también lo componen una serie de elementos cuyo funcionamiento que son tres; la platina, que contiene una serie de estribos, y columna es la sostiene a toda la platina.

Sistema de manejo, es un procedimiento sensible que tiene la función de registrar el peso del objeto mediante un método de escalas, el mismo se encuentra compuesto de una cruz y de algunas cuchillas.

Sistema de escalas, tiene la tarea de arrojar el valor de la pesada, registrando el peso del objeto, la escala óptica y la micrometría, está compuesto de patas tipo tornillo y de una burbuja, realizar la nivelación, su función es de nivelar la balanza hidrostática analítica, para registrar el resultado de la pesada correctamente, el botón de control ajusta la cantidad de la pesada que está siendo registrado (Anónimo 1952, p. 23).

Método de Dragendorff, reactivo que consiste: en un matraz Erlenmeyer de 125 mL disolver 8g de nitrato de bismuto pentahidratado con 20 mL de ácido nítrico (cuya densidad sea de 1.18 g/mL, al 30%). En otro matraz colocar 27.2 g de yoduro de potasio con 50 mL de agua destilada, Mezclar las dos soluciones y dejar en reposo durante 24 horas, Decantar la solución (para separar residuos de cristales de nitrato de potasio). Y aforar con agua destilada a 100 mL (Brown 2004, p. 153).

Método de cloruro férrico, reactivo que determinar taninos; consiste en disolver 1.25 g de cloruro férrico en 25 mL de agua destilada (Voet y Voet, 2006, p. 221).

Método de Shinoda, determina flavonoides; colocar en un tubo de ensayo la cantidad de la muestra que se desea determinar flavonoides, agregue algunas virutas de magnesio y algunas gotas de ácido clorhídrico concentrado, se deja reposar 5 minutos, añadir 1 mililitro de alcohol metálico (Orozco, *et al.*, 2008, p.39).

Método de Libermann – Burchard, determinar esteroides basados en los reactivos de ácido sulfúrico y anhídrido acético usando la pera de bromo, dando una reacción de dobles enlaces formando capas, entre ellas un anillo (Orozco, *et al.* 2008, p. 39).

Método de la espuma, reacción que permite determinar saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos, si estos presentan alcoholes se diluyen su volumen de dos a cinco veces con agua destilada para luego ser agitada de cinco a 10 minutos para

ver a simple vista la reacción de espumosis que sobre sale del tubo de ensayo (Anónimo 1952, p. 23).

Método de fenolftaleína, reacción que permite determinar ácidos, consiste en agrega una gota de reactivo fenolftaleína a la muestra que se desea evaluar, normalmente la fenolftaleína se disuelve en alcohol tornándose incolora (Voet y Voet, 2006, p. 221).

Método cualitativo, práctica que permite determinar alcoholes, consiste en filtrar la muestra que se desea evaluar hasta llegar a una coloración transparente donde se produce una reacción donde los alcoholes sufren una desprotonación de hidroxilo (-OH), para lograr la oxidación se añade reactivos como Permanganato de potasio (oxidante fuerte), ácido acético, agua de bromo, y metales como Sodio y Cobre (Brown 2004, p. 153).

PROCOLO DE TRABAJO EN EL LABORATORIO DE FITOPATOLOGIA 2018

(Protocolo de Seguridad para los Laboratorios y Talleres de la Universidad Nacional según resolución de consejo universitario N° 741-2017.UNC.)

Normas de seguridad en el laboratorio

1. Mantener diez (10) estudiantes en el laboratorio, según el aforo.
2. Tener cuidado al manipular las muestras en húmedo porque contienen formaldehído si en alguna oportunidad se derrama lavarse inmediatamente con agua y jabón.
3. Durante el flameado con alcohol, tener cuida con la distancia de la llama del mechero, a la distancia del asperjador.
4. Usar mascarilla para mantener la asepsia.
5. Evite manipular reactivos que se encuentren en recipientes destapados o dañados.
6. Durante la ejecución de las practicas, el técnico, estudiantes, practicantes, tesistas están obligados a usar mandil o guardapolvo blanco, mascara de protección y guantes.
7. Cuando se hace uso del equipo óptico (estereoscopio y microscopio) es necesario limpiar los oculares con alcohol.
8. No consumir alimentos y otros productos cuando se este manipulando los materiales y equipos de laboratorio.
9. Mantener bajo llave, los productos químicos de riesgo toxico.
10. No guardar alimento, envases destinados a guardar alimentos en el laboratorio.
11. Anualmente se procederá a verificar la utilidad de algunos productos químicos almacenados eliminando los caducados.

Protocolo de uso de laboratorio

1. El técnico, alumnos, practicantes y tesistas están obligados a usar mandil o guardapolvo blanco; indumentaria que sirve para proteger la ropa del operador por el derrame de algún producto líquido o reactivo de tinción.
2. Cuando se trabaja en este laboratorio los operadores debe utilizar ropa y calzado adecuados, principalmente las damas deben usar zapato cerrado y de tacón bajo el cabello recogido.
3. Antes de manipular los equipos, como autoclave, cámara de flujo laminar, estufa, incubadora y otros, consultar antes con el técnico o personal a encargado del laboratorio.
4. En el laboratorio el ambiente debe estar bien ventilados, para eso las ventanas, puertas deben estar completamente abiertas.

Mantener el laboratorio limpio y ordenado.
5. Después de cada practica el materia biológico que se va desechar se debe colocar en bolsas de papel para luego llevarlas a los depósitos basureros, el material químico que se va desechar, se debe colocar en bosas de polietileno cerradas herméticamente y colocarlos en el basurero respectivo.
6. En el laboratorio está prohibido verter en el sistema de drenaje disolventes orgánicos, sustancias corrosivas o venenosas.
7. Lavarse las manos después de terminar alguna actividad y salir del laboratorio
8. Prohibido realizar prácticas de maquillaje, fumar, ingerir bebidas y alimentos dentro de este ambiente.

Clasificación de sustancias

1. Disponer en un lugar adecuado los depósitos de alcohol, guardados en ambientes libres del alcance de fuego.

2. El depósito del mechero del alcohol se debe mantener vacío solo llenarlo cuando se utiliza.
3. Los materiales que se no se utilizan se mantienen clausurados como son mecheros a gas, cocina a gas por ser inflamables.
4. Al manipular el sulfato cúprico evitar inhalación del gas desprendido usan la mascarilla.
5. Evitar el contacto con depósitos de metal oxidado.
6. Durante la preparación de muestras húmedas evitar la inhalación de olores irritantes.
7. Hervir las placas de siembra que contiene hongos y bacterias, para evitar su diseminación.

Control de emergencia y primeros auxilios

1. En caso de derrame de algún producto nocivo, se hará uso de métodos de protección, usando palas plásticas, y recipientes herméticos.
2. En caso de alguna emergencia se evacuara al personal teniendo en cuenta la señalización.
3. En caso de accidentes, se hará uso de primeros auxilios,
4. Si se hace contacto con sustancias corrosivas, oxidantes, inflamables y toxicas recurrir a la asistencia médica inmediata.
5. Si se inhala algún gas toxico salir de inmediato del ambiente para respirar aire fresco, respirando profundamente por varios minutos. De lo contrario aplicar oxigeno por parte del personal capacitado.
6. Si se ingiere algún toxico por accidente fortuito, tomar abundante agua (1 litro si es posible) para diluir el marital. Lavar la boca con abundante agua, induciendo al bonito.

PROTOCOLO DE SEGURIDAD Y /O ESTANDARES DE SEGURIDAD DE FUNCIONAMIENTO DE LABORATORIO DE QUÍMICA 2018

(Protocolo de Seguridad para los Laboratorios y Talleres de la Universidad Nacional según resolución de consejo universitario N° 741-2017.UNC.)

Normas de seguridad en el laboratorio

1. Mantener diez (10) estudiantes en el laboratorio, según el aforo.
2. Tener cuidado al manipular las muestras en húmedo porque contienen formaldehído si en alguna oportunidad se derrama lavarse inmediatamente con agua y jabón.
3. Durante el flameado con alcohol, tener cuidado con la distancia de la llama del mechero, a la distancia del asperjador.
4. Usar mascarilla para mantener la asepsia.
5. Evite manipular reactivos que se encuentren en recipientes destapados o dañados.
6. Durante la ejecución de las prácticas, el técnico, estudiantes, practicantes, tesisistas están obligados a usar mandil o guardapolvo blanco, máscara de protección y guantes.
7. Cuando se hace uso del equipo óptico (estereoscopio y microscopio) es necesario limpiar los oculares con alcohol.
8. No consumir alimentos y otros productos cuando se este manipulando los materiales y equipos de laboratorio.
9. Mantener bajo llave, los productos químicos de riesgo tóxico.
10. No guardar alimento, envases destinados a guardar alimentos en el laboratorio.
11. Anualmente se procederá a verificar la utilidad de algunos productos químicos almacenados eliminando los caducados.

Protocolo de uso de laboratorio

1. El técnico, alumnos, practicantes y tesistas están obligados a usar mandil o guardapolvo blanco; indumentaria que sirve para proteger la ropa del operador por el derrame de algún producto líquido o reactivo de tinción.
2. Cuando se trabaja en este laboratorio los operadores debe utilizar ropa y calzado adecuados, principalmente las damas deben usar zapato cerrado y de tacón bajo el cabello recogido.
3. Antes de manipular los equipos, como autoclave, cámara de flujo laminar, estufa, incubadora y otros, consultar antes con el técnico o personal a encargado del laboratorio.
4. En el laboratorio el ambiente debe estar bien ventilados, para eso las ventanas, puertas deben estar completamente abiertas.
5. Mantener el laboratorio limpio y ordenado.
6. Después de cada practica el materia biológico que se va desechar se debe colocar en bolsas de papel para luego llevarlas a los depósitos basureros, el material químico que se va desechar, se debe colocar en bosas de polietileno cerradas herméticamente y colocarlos en el basurero respectivo.
7. En el laboratorio está prohibido verter en el sistema de drenaje disolventes orgánicos, sustancias corrosivas o venenosas.
8. Lavarse las manos después de terminar alguna actividad y salir del laboratorio
9. Prohibido realizar prácticas de maquillaje, fumar, ingerir bebidas y alimentos dentro de este ambiente.

Clasificación de sustancias

1. Disponer en un lugar adecuado los depósitos de alcohol, guardados en ambientes libres del alcance de fuego.

2. El depósito del mechero del alcohol se debe mantener vacío solo llenarlo cuando se utiliza.
3. Los materiales que se no se utilizan se mantienen clausurados como son mecheros a gas, cocina a gas por ser inflamables.
4. Al manipular el sulfato cúprico evitar inhalación del gas desprendido usan la mascarilla.
5. Evitar el contacto con depósitos de metal oxidado.
6. Durante la preparación de muestras húmedas evitar la inhalación de olores irritantes.
7. Hervir las placas de siembra que contiene hongos y bacterias, para evitar su diseminación.

Control de emergencia y primeros auxilios

1. En caso de derrame de algún producto nocivo, se hará uso de métodos de protección, usando palas plásticas, y recipientes herméticos.
2. En caso de alguna emergencia se evacuara al personal teniendo en cuenta la señalización.
3. En caso de accidentes, se hará uso de primeros auxilios,
4. Si se hace contacto con sustancias corrosivas, oxidantes, inflamables y toxicas recurrir a la asistencia médica inmediata.
5. Si se inhala algún gas toxico salir de inmediato del ambiente para respirar aire fresco, respirando profundamente por varios minutos. De lo contrario aplicar oxigeno por parte del personal capacitado.
6. Si se ingiere algún toxico por accidente fortuito, tomar abundante agua (1 litro si es posible) para diluir el marital. Lavar la boca con abundante agua, induciendo al bonito.