

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

CARRERA DE MICROBIOLOGÍA

**Caracterización del agente causal del daño foliar en quinua
(*Chenopodium quinoa* Willd) en la provincia de Chimborazo**

Disertación previa a la obtención del título de Microbióloga

ANDREA ISABEL FIALLO DÍAZ

QUITO, 2023

CERTIFICACIÓN

Certifico que, la disertación de Microbiología de la Srta. Andrea Isabel Fiallo Díaz ha sido concluida con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.



Mtr. Jeniffer Marcela Yáñez Altuna

Directora de la Disertación

Quito, 18 de agosto de 2023

DEDICATORIA

Para mi mamá Marianela Díaz Tipán quien crio a tres hijos ella sola, me enseñó que no importa la dificultad que exista, siempre hay que seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi madre Marianela Díaz por apoyarme en cada decisión, darme la oportunidad de formarme profesionalmente y su amor incondicional. A mis hermanos que han estado en vida ayudándome y apoyándome. A mis tías, especialmente a mi tía Tania, por su apoyo y estar junto a mí en mi formación académica en el colegio y siempre darme ánimos a seguir. Mis sobrinos por aportar felicidad a mi vida, a mi padre y a toda mi familia por su apoyo.

A mi directora de disertación, la Mtr Jeniffer Yáñez, por brindarme su orientación y conocimientos durante mi formación académica y en la elaboración de la tesis. De igual manera, agradezco a Alex Leguízamo Medina del CEFA de programa cadena de valor por su apoyo en la realización de esta investigación. A la Dra. María Luisa Insausti por brindarme sus conocimientos en el Laboratorio de protección vegetal del INIAP estación Santa Catalina.

A mis amigas de la universidad Lesly Aldaz y Anabeliza Cajas, por estar a mi lado en toda la carrera, por su apoyo cuando más lo necesitaba y permitirme estar en su vida, a David que estuvo apoyando en el proceso de la realización de la tesis.

A mis niños que se quedaron a mi lado esperando que termine de hacer mis deberes y siempre sacarme una sonrisa

TABLA DE CONTENIDOS

1.	RESUMEN	1
2.	ABSTRACT	2
3.	INTRODUCCIÓN	3
4.	OBJETIVOS	7
4.1	OBJETIVO GENERAL	7
4.2	OBJETIVO ESPECIFICO	7
5	MATERIALES Y MÉTODOS	8
5.1	TOMA DE MUESTRAS.	8
5.2	PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS	8
5.3	DETECCIÓN SEROLÓGICA	9
5.3.1	DAS ELISA.	9
5.3.2	ELISA INDIRECTA	10
5.4	PRUEBA DE REPLICACIÓN DE SÍNTOMAS EN PLANTAS DE QUINUA EN INVERNADERO	11
5.4.1	GERMINACIÓN DE SEMILLAS	11
5.4.2	TRASPLANTE	111
5.4.2	EVALUACIÓN DE SINTOMATOLOGÍA EN INVERNADERO	12
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	14
6.1	DETECCIÓN SEROLÓGICA.	14
6.1.1	ELISA INDIRECTA	18
6.2	REPLICACIÓN DE SÍNTOMAS EN PLANTAS DE QUINUA EN INVERNADERO	20
7	CONCLUSIONES	23
8	RECOMENDACIONES	24
9	REFERENCIAS	25

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Cultivos de quinua con presencia de síntomas en la provincia de Chimborazo. Presencia de hojas amarillas, enrollamiento de las hojas y desarrollo pobre. _____ 8
- Figura 2. Macerado de hojas. Se utilizó el tampón de extracción general marca Agdia. _____ 9
- Figura 3. Plántulas de quinua de tres semanas. Listas para el trasplante. ____ 1212
- Figura 4. Planta de quinua con áfidos. Los áfidos son colocados en el haz de las hojas (izquierda). A un total de 20 plantas se las coloca los tres áfidos mismos que cubiertas con fundas que poseen pequeños orificios de esta manera se evitó que los áfidos dejen la planta. _____ 12
- Figura 5. Placas ELISA para la detección del *virus del mosaico de la alfalfa*. Placa con muestras maceradas con el tampón de extracción general y los controles negativo y positivo (A), finalización del proceso ELISA indicando la presencia o ausencia de AMV (B). _____ 15
- Figura 6. Placas ELISA para la detección del *virus del mosaico del pepino*. Placa con muestras maceradas con el tampón de extracción general y los controles negativo y positivo (A), finalización del proceso ELISA indicando la presencia o ausencia de CMV (B). _____ 16
- Figura 7. Placas ELISA para la detección del *virus del moteado del pepino*. Placa con muestras maceradas con el tampón de extracción general y los controles negativo y positivo (A), finalización del proceso ELISA indicando la presencia o ausencia de PepMov (B). _____ 17
- Figura 8. Placas ELISA para la detección del *virus de la papa Y*. Placa con muestras maceradas con el tampón de extracción general y los controles negativo y positivo (A), finalización del proceso ELISA indicando la presencia o ausencia de PVY (B). 17
- Figura 9. Placas ELISA para la detección del *virus de la papa S*. Placa con muestras maceradas con el tampón de extracción general y los controles negativo y positivo (A), finalización del proceso ELISA indicando la presencia o ausencia de PVS (B). 18
- Figura 10. Placa de ELISA para la detección del género *Potyvirus*. Se puede observar el control positivo en la columna 10 fila B de coloración amarilla transparente. _____ 19
- Figura 11. Plantas de quinua con sintomatología. Hojas con enrollamiento (A), áfidos dentro de una hoja enrollada (B), marchitamiento de las plantas (C) y clorosis de las hojas (D). _____ 21
- Figura 12. Observación de *H. atriplicis* dentro del enrollamiento. Hojas sin presencia de huevos o momias _____ 22

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Prueba ELISA para detectar la ausencia o presencia del <i>virus del mosaico de la alfalfa</i> . _____	<u>15</u>
Tabla 2. Prueba ELISA para detectar la ausencia o presencia del <i>virus del mosaico del pepino</i> . _____	<u>16</u>
Tabla 3. Prueba ELISA para detectar de ausencia o presencia del <i>virus del moteado del pimiento</i> . _____	<u>16</u>
Tabla 4. Prueba ELISA para la detección de ausencia o presencia del <i>virus de la papa Y</i> _____	<u>17</u>
Tabla 5. Prueba ELISA para la detección de ausencia o presencia del <i>virus de la papa S</i> _____	<u>18</u>
Tabla 6. Prueba ELISA para la detección de ausencia o presencia del género <i>PotyVirus</i> . _____	<u>19</u>
Tabla 7. Evaluación de la sintomatología presente en las plantas de quinua ____	<u>20</u>

1. RESUMEN

Chenopodium quinoa Willd es clasificada como un pseudocereal originario de América del Sur cultivada principalmente Bolivia, Perú y Ecuador, posee una alta importancia social y económica. En el Ecuador un total de 5000 familias producen quinua y en la provincia de Chimborazo un promedio de 1300 familias, estos cultivos se pueden ver afectados por plagas o enfermedades produciendo una pérdida a los agricultores. Las plagas pueden afectar hasta un 40% de los cultivos por la presencia de plagas especialmente de los áfidos que tienen gran importancia ecológica ocasionando daños directos al succionar el floema de la planta o indirectos al transmitir virus y para detectarlos se utiliza métodos con mayor sensibilidad como ELISA. Al realizar Das-ELISA se determinó que en las siete localidades muestreadas de la provincia de Chimborazo no existen infecciones virales por *Virus del mosaico de la alfalfa* (AMV), *Virus del mosaico del pepino* (CMV), *Virus del moteado del pimiento* (PepMov), *Virus de la papa Y* (PVY) y *Virus de la papa S* (PVS) en las plantas de quinua. Los resultados de la prueba de ELISA Indirecta para detectar la presencia del género PotyVirus fueron negativos. El ensayo en invernadero comprobó la sintomatología que causa *H. atroplicis*, amarillamiento en 35%, 100% de enrollamiento y un 50% de decaimiento en las plantas de quinua. Se descarta la producción de síntomas causados por infecciones virales. El áfido al alimentarse produce lesiones que enrollan las hojas, causan clorosis y marchitamiento general a las plantas de quinua. Se recomienda mantener seguimientos a los cultivos de quinua para evitar la presencia de áfidos.

Palabras clave: Virus, *Hayhurstia atroplicis*, ELISA indirecta, DAS ELISA, *Chenopodium quinoa* Wild

2. ABSTRACT

Chenopodium quinoa Willd is classified as a pseudocereal native to South America, cultivated mainly in Bolivia, Peru, and Ecuador; it has a high social and economic importance. In Ecuador, a total of 5,000 families produce quinoa, and in the province of Chimborazo, an average of 1,300 families. These crops can be affected by pests or diseases, creating a loss for farmers. Problems can affect up to 40% of crops due to the presence of pests, especially aphids, which are of great ecological importance, causing direct damage by sucking the phloem of the plant or indirect damage by transmitting viruses, and more sensitive methods are used to detect them, such as ELISA. When performing Das-ELISA, it was determined that in the seven sampled locations in the province of Chimborazo, there are no viral infections by *alfalfa mosaic virus* (AMV), *cucumber mosaic virus* (CMV), *pepper mottle virus* (PepMov), *Potato Virus Y* (PVY) and *Potato Virus S* (PVS) in quinoa plants. The results of the Indirect ELISA test to detect the presence of the genus *PotyVirus* were negative. The greenhouse trial verified the symptoms caused by *H. atroplicis*, 35% yellowing, 100% curling, and 50% decay in the quinoa plants. The production of symptoms caused by viral infections is ruled out. When feeding, the aphid produces lesions that roll up the leaves, causing chlorosis and general wilting of quinoa plants. It is recommended to maintain monitoring of quinoa crops to avoid the presence of aphids.

Keywords: Virus, *Hayhurstia atroplicis*, indirect ELISA, DAS ELISA, *Chenopodium quinoa Wild*

3. INTRODUCCIÓN

La quinua (*Chenopodium quinoa Willd*), es una especie originaria de América del Sur perteneciente a la familia *Amaranthaceae*, clasificada como un pseudocereal (Ahumada et al., 2016). También es llamada parca (quechua), supha, jopa, aymara, jiura y vocali (Comité Europeo para la Formación y la Agricultura, s. f.; García-Parra et al., 2018).

La planta de quinua tiene una raíz fibrosa, lo que la hace resistente a los fuertes vientos, las raíces laterales son muy ramificadas y varían en longitud de 0,8 a 1,5 m. Los tallos pueden ser simples o ramificados, durante la época de floración el color puede ser verde o morado, la altura puede variar de 1 a 8 m desde la base del tallo hasta la punta (Masats, 2019). Las hojas tienen diferentes márgenes como: enteras, dentadas y aserradas, bipartitas, pecíolos verdes, morados, rojos o rosados, pueden ser rectas desde el tallo, más largas que las de las ramas, y láminas que pueden ser triangulares, rómbicas o lanceoladas, de color verde de color y al madurar puede cambiar de color a naranja, amarillo, rosado o morado (Rodríguez, 2018). Las flores se encuentran en los glomérulos, pueden ser sésiles o pediceladas, siendo las plantas ginomonoicas tienen flores hermafroditas las cuales se encuentran en el ápice de los glomérulos, tienen cinco tépalos, cinco anteras y un ovario, por otro lado, los pistilos florales se ubican alrededor y debajo de las flores hermafroditas que está formada por cinco sépalos, un ovario y de dos a tres ramas estigmáticas (Gómez y Aguilar, 2016).

La forma del fruto es lenticular, elipsoidal o esferoidal está conformado del pericarpio y la semilla puede alcanzar un diámetro de 1.5 a 3mm. El pericarpio se encuentra junto a la capa de las semillas mismas que muestran tres partes como: epispermo (cubre la semilla), embrión (30% del volumen de la semillas) y perisperma (principal tejido de almacenamiento) (Gómez y Aguilar, 2016). Las semillas tienen la mayor porción del valor alimenticio al tener el 12 – 21% de proteína, 2 – 9,5% de grasas, 8,8 – 14,1% de fibra, 64 gramos de carbohidratos, 22miligramos de vitamina C y 47 miligramos de calcio (García-Parra et al., 2018; Riquelme, 2018), se las puede

encontrar de diferentes colores como: café, amarillo, rosado, gris, rojo y negro su diámetro va desde 1.8 a 2.2mm (Soto et al., 2015).

La dispersión geográfica de la quinua es amplia, con alta importancia social y económica, y gran diversidad de ecotipos tanto cultivados técnicamente como en estado silvestre (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura[FAO], 2011). Estas plantas se clasifican en amargas o dulces según el contenido de saponina de la semilla (Soltani et al., 2021). El ciclo vegetativo oscila entre los 5 a 8 meses, se cultiva en Bolivia, Perú y Ecuador. En el país se siembra en la Sierra, en especial en las provincias del Imbabura (11,71%), Pichincha (20,37%), Cotopaxi (17%), Tungurahua (10,79%) y Chimborazo (15,64%) (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2020; Pinto, s. f.).

En el Ecuador un total de 5000 familias producen quinua, en la provincia Chimborazo son un promedio de 1 300 familias son productoras de quinua orgánica certificada utilizan alrededor de 1000 hectáreas para su producción (La Prensa, 2021; Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2022). Un total de 3539 agricultores tenían destinados la totalidad de sus tierras para el cultivo de quinua en el 2016, para el 2017 esta cifra se redujo y como se puede observar ha seguido disminuyendo las familias que producen quinua (Enriquez, 2018). Alrededor de 700 toneladas métricas se exportan a los mercados de Estados Unidos y a la Unión Europea (Ibarra Velásquez, 2019; Leguízamo & Morocho, 2020). Estas familias dependen del ingreso de su producción de quinua si esta producción reduce por la presencia de plagas o de enfermedades los agricultores perderán su ingreso monetario.

La producción de quinua se puede ver afectada por diferentes plagas o enfermedad produciendo una pérdida (parcial o total) del cultivo de quinua o una menor eficiencia (Roma, 2001). Las plagas que pueden ocasionar daños importantes en las plantaciones afectando hasta el 40% de los cultivos, principalmente por los insectos minadores y chupadores (áfidos) (Zurita-Silva y Quiroz, 2016). Los pulgones o áfidos los cuales tienen gran importancia ecológica considerados como uno del

grupo de plagas con más importancia, esto se debe que se los puede encontrar en gran variedad de especies vegetales al tener una tasa reproductiva alta y agronómica al comprometer el valor de los cultivos (Lorenzo, 2016).

Los áfidos provienen de la familia *aphididae* mismos que pueden variar los colores (verdes, amarillos o negros). Pueden ser alados (las alas son transparentes con bordes engrosados y las pueden colocar en diferentes posturas) o no tener alas. Se alimentan de la savia de las plantas al tener un estilete les permite perforar el tejido epidérmico del tallo de las plantas pueden ser específicos para un solo tipo de cultivo o alimentarse de diferentes especies de plantas. Pueden alternar su reproducción entre la asexual y sexual esta se da cuando las condiciones en las que viven no son adecuadas (Villacide & Masciocchi, 2014). Esta plaga provoca daños directos e indirectos que se traducen en disminución del rendimiento (Lezaun, 2016). Los daños directos los causan al succionar el floema, introduciendo un estilete que le permite perforar el tejido epidérmico del tallo de las plantas. Mientras que, el daño indirecto se produce cuando el pulgón es transmisor de virus (Lezaun, 2016).

H. atriplicis o “áfido del Chenopodium” puede presentar alas para de esta manera colonizar nuevas plantas e iniciar nuevas colonias. Las ninfas se van hacia las hojas más jóvenes para iniciar la formación de agallas. Aquellas hembras que no poseen alas depositan sus huevos lo más arriba posible hacia la porción de semillas para que sean distribuidos a lo largo y ancho de los cultivos por el viento o tormentas; los huevos son ovalados, de color negro brillante midiendo 60 x 327 mmm (Hayhurst, 2016; Moran & Whitham, 1990). Estos áfidos son de color verde cubiertos por un polvo de cera blanca, son pequeños y se encanutaran ligeramente hinchados, la longitud de su cuerpo adulto es de 1,5mm a 2,9mm (InfluentiaPoints, 2013), presentan una forma de pera con un par de cornículas en el extremo posterior de su abdomen y dos antenas largas.(Carpio et al., 2022). Los áfidos pueden transmitir muchos de los 275 virus que causan enfermedades de importancia económica (Dedryver et al., 2010), ellos pueden vivir un promedio de un mes en el que pueden producir de 40 – 85 crías (National Pesticide Information Center, 2020).

Los virus fitopatógenos requieren de plantas que infectan para poder replicarse, pueden estar compuestos de ADN o ARN y de una capa proteica. Al ser pequeños no pueden ser vistos con microscopios convencionales, para poder detectarlos se utiliza métodos con mayor sensibilidad como son ELISA (Ensayo Inmunoabsorbente ligado a enzimas), PCR (reacción en cadena de la polimerasa) u inoculación en plantas. Las virosis causan grandes pérdidas para los agricultores al no tener una alternativa para su control, por lo que es necesario manejar de forma preventiva (Ganchozo Quimis et al., 2018).

La técnica ELISA mide la síntesis de complejos antígeno-anticuerpo utilizando una enzima como marcador. Existe varias técnicas ELISA para detectar y cuantificar ligandos, el marcador enzimático utilizado se conjuga con un ligando q puede ser un antígeno o un anticuerpo (Guzmán-Vázquez, 2004). Double Antibody Sandwich ELISA (DAS-ELISA) o ELISA sándwich se utilizan dos anticuerpos específicos contra el antígeno para capturarlo a forma de un sándwich en la placa. La Elisa indirecta se usa un anticuerpo primario y un anticuerpo secundario marcado este es reconocido por el anticuerpo primario (Mathieu, 2019).

En este contexto, este estudio analizará tejido vegetal de hojas de quinua, buscando la presencia de diversos virus que pueden infectar la planta y, además, replicará la infección de áfidos en plantas para obtener síntomas asociados al enrollamiento de la hoja de quinua.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Caracterizar el agente causal de los síntomas en hojas de quinua (*Chenopodium quinua Willd*) en la provincia de Chimborazo

4.2 OBJETIVO ESPECIFICO

4.2.1 Determinar la presencia de los virus del género *PotyVirus*, *Virus del mosaico de la alfalfa* (AMV), *Virus del mosaico del pepino* (CMV), *Virus del moteado del pimiento* (PepMov), *Virus de la papa Y* (PVY) y *Virus de la papa S* (PVS) en plantas de quinua mediante prueba de ELISA.

4.2.2 Comprobar si la sintomatología presente en las hojas de plantas de quinua es causada por el áfido *Hayhurstia atriplicis*

5 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 TOMA DE MUESTRAS.

Las muestras fueron colectadas de seis diferentes localidades de la provincia de Chimborazo: San Francisco de Cunuwuachay, Santiago de Quito, Majipamba, Lupaxi Central, Tabla Rumi y Achullay. Aquellas hojas que presenten clorosis y enrollamiento, también las hojas sanas de la misma planta fueron recolectadas (figura 1) y colocadas en una bolsa de plástico de polietileno con cierre hermético para mantener la humedad. Las bolsas se identificaron con georreferencia de la zona y fecha de la toma de la muestras como lo indica la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario [AGROCALIDAD], 2018. Se conservaron las muestras en una temperatura de $6^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, para evitar el deterioro del tejido vegetal (Ministerio de Agricultura, s. f.).



Figura 1. Cultivos de quinua con presencia de síntomas en la provincia de Chimborazo. Presencia de hojas amarillas, enrollamiento de las hojas y desarrollo pobre.

5.2 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se dividió en dos partes las muestras. La primera fracción de las muestras se utilizaron en pruebas DAS ELISA, se pesaron y colocaron en bolsas plásticas de poliestireno, se trituro el tejido vegetal con un homogeneizador de tejidos de la marca Agdia. Al macerado se lo diluyó en una porción de 1:10 con el tampón de extracción general (GEB) (Agdia, Inc, 2021). La segunda fracción de las muestras fueron

utilizadas para el análisis de ELISA indirecta, donde se realizó el mismo macerado, pero en este caso se utilizó el tampón de extracción indirecta en una porción de 1:100 (figura 2) (Agdia, Inc, 2021b).

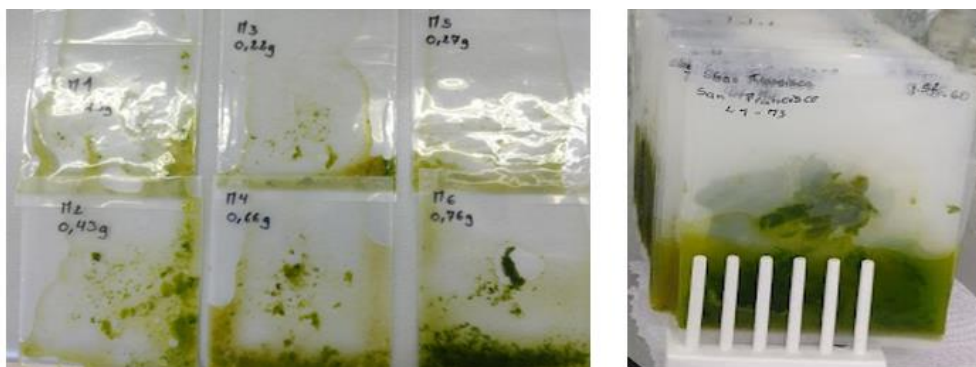


Figura 2. Macerado de hojas. Se utilizó el tampón de extracción general marca Agdia.

5.3 DETECCIÓN SEROLÓGICA

5.3.1 DAS ELISA.

Cada una de las placas se las etiquetó con las abreviaturas del virus a detectar: *Virus del mosaico de la alfalfa* (AMV por sus siglas en inglés), *Virus del mosaico del pepino* (CMV por sus siglas en inglés), *Virus del moteado del pimiento* (PepMov por sus siglas en inglés), *Virus de la papa Y* (PVY por sus siglas en inglés) y *Virus de la papa S* (PVS por sus siglas en inglés).

El anticuerpo de captura (CAB) fue diluido con el tampón de recubrimiento de carbonato 1X en las porciones indicadas por el fabricante, las placas fueron recubiertas con esta dilución. Se colocó 100µL de CAB diluido en cada pocillo, y se incubó en una caja húmeda por cuatro horas a 30°C. Una vez pasado ese tiempo se vació el contenido de la placa recubierta y se lavó por tres veces con PBST (tampón de lavado o Wash Buffer). La placa se envolvió con papel toalla y golpeada fuertemente sobre una superficie sólida para eliminar los restos de humedad. Posteriormente, se vertió 100µL de las muestras previamente extraídas, también fueron colocados el control negativo y positivo, la caja fue incubada en una caja

húmeda por toda la noche a 8°C (Agdia, Inc, 2021a). Se lavó la placa por ocho veces con PBST y se secó nuevamente con golpeteos fuertes sobre una toalla de papel.

La solución de detección se preparó mezclando el anticuerpo de detección y el conjugado enzimático en un recipiente que no se adhiera. Una vez diluido el conjugado enzimático con el tampón ECI se colocó 100µL de la solución de detección en cada uno de los pocillos, después se incubó la placa en una caja húmeda por dos horas a temperatura ambiente. Se repitió los ocho lavados con PBST y secamos la placa con golpes fuertes sobre una toalla de papel. Se preparó el sustrato con una tableta de PNP por cada 5ml del tampón de sustrato PNP se lo mantuvo en oscuridad hasta usarlo. A la placa lista se colocó 100µL de la solución PNP en cada uno de los pocillos se llevó a incubar durante una hora a temperatura ambiente protegiéndola de la luz (Agdia, Inc, 2021a). Pasada la hora se observó la placa para la obtención de resultados.

5.3.2 ELISA INDIRECTA

Esta prueba se utilizó para determinar la presencia del virus de género Potyvirus. Se colocó directamente 100µL de la muestra en la placa con el anticuerpo, así como también el control negativo y positivo, se incubó por una hora a temperatura ambiente en una caja húmeda. Mientras pasaba la hora de incubación se preparó el anticuerpo de detección como lo indica el fabricante. Al finalizar la incubación se desechó el contenido, se lavó la placa ocho veces con PBST y se secó la placa con golpes sobre una toalla de papel, después se colocó 100µL del anticuerpo de detección y se incubó la placa en una caja húmeda durante dos horas a temperatura ambiente (Agdia, Inc, 2021b).

El conjunto enzimático fue diluido con tampón EC (como lo indicia el fabricante), se lavó la placa ocho veces con PBST y se secó con golpes sobre un papel toalla, después se colocó 100µL del conjugado enzimático diluido en cada uno de los pocillos, se incubó durante una hora a temperatura ambiente en una caja húmeda.

Por último, preparamos el sustrato en cual se agregó una tableta de PNP por cada 5ml del tampón de PNP y lo mantuvimos en la oscuridad hasta usarlo. Una vez la placa lista colocamos 100µL de la solución PNP en cada uno de los pocillos, la llevamos a incubar la placa durante una hora a temperatura ambiente protegiéndola de la Luz. (Agdia, Inc, 2021b).

5.4 PRUEBA DE REPLICACIÓN DE SÍNTOMAS EN PLANTAS DE QUINUA EN INVERNADERO

5.4.1 GERMINACIÓN DE SEMILLAS

Las semillas fueron hidratadas con agua destilada hasta las 2/3 partes del vaso de precipitación de 600 mL, durante doce horas a temperatura ambiente (Rivera & Hernández, 2017). Transcurrido ese tiempo se eliminó el agua y se sembraron 15 macetas, con 10 semillas cada una. Las semillas fueron colocadas a 1,2cm de profundidad aproximadamente y cubiertas con sustrato. La planta de quinoa posee mecanismos fisiológicos que le permiten tolerar y resistir el déficit de humedad del suelo y las heladas, por lo que precisa de poca agua (Traxco, S.A., 2016) por tanto, se regó pasando un día. Las semillas utilizadas fueron adaptadas a las condiciones de la provincia de Chimborazo. El sustrato se preparó en una porción 3/1 tres partes de suelo negro y una de pomina.

5.4.2 TRASPLANTE

Se seleccionaron 21 plántulas (figura 3) para ser trasplantadas con una porción de sustrato, para evitar daño en las raíces y se retiró las plántulas con ayuda de un cepillo (Acosta, 2019). Las plántulas se ubicaron en nuevas macetas cubriendo con suelo hasta enterrar completamente las raíces y fueron regadas cada cuarenta y ocho horas (Ochoa, 2021).



Figura 3. Plántulas de quinua de tres semanas. Listas para el trasplante.

5.4.2 EVALUACIÓN DE SINTOMATOLOGÍA EN INVERNADERO

Tres semanas después del trasplante, se colocaron tres áfidos de la especie *Hayhurstia atriplicis* a 20 plantas (figura 4). Estos insectos libres de patógenos fueron obtenidos del Laboratorio de Entomología de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE). Los áfidos fueron colocados en el haz de las hojas de quinua con la ayuda de un pincel y un vaso de precipitación. El pincel se humedeció en agua destilada para trasladarlos a los áfidos de la caja Petri a las plantas (Terrile, 2010).



Figura 4. Planta de quinua con áfidos. Los áfidos son colocados en el haz de las hojas (izquierda). Plantas con tres áfidos protegidos con fundas que poseen pequeños orificios para evitar su escape

Las plantas fueron monitoreadas durante tres semanas hasta visualizar los siguientes síntomas: clorosis, enrollamiento de hojas y marchitamiento de la planta.

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

6.1 DETECCIÓN SEROLÓGICA.

Después de una hora de incubación las placas de ELISA preparadas para la identificación de cada uno de los virus fueron revisadas. Las imágenes de las placas con los resultados se citan a continuación: *Virus del mosaico de la alfalfa* (AMV) (Tabla 1; Figura 5), *Virus del mosaico del pepino* (CMV) (Tabla 2; Figura 6), *Virus del moteado del pimiento* (PepMov) (Tabla 3; Figura 7), *Virus de la papa Y* (PVY) (Tabla 4; Figura 8) y *Virus de la papa S* (PVS) (Tabla 5; Figura 9). Al analizar las placas se evidenció que la reacción no fue positiva para ninguno de estén los virus.

Sin embargo, Sepúlveda y colaboradores (2001), mediante análisis con ELISA confirman la presencia de AMV en plantas de fréjol que presentaban síntomas sistémicos especialmente clorosis foliar y diversos grados de deformación, así también, se menciona que el principal medio de transmisión de este virus son los áfidos, y al inocular el virus en plantas como *Chenopodium amaranyicolor* y *Chenopodium quinoa* se presentaron lesiones locales e infecciones sistémicas. Finalmente, menciona que el virus AMV es endémico en Chile

Pérez-Moreno et al., (2016) sugieren que, dependiendo de la localidad y la estación del año que se cultive, las virosis pueden aumentar o disminuir. Reportan además que, encontraron cinco especies diferentes de virus en muestras de lechuga en los que se encuentran AMV y el CMV con una incidencia de 23.6%. Lacasa et al., (2001) realizó un ensayo de diseminación del virus obteniendo resultados positivos con la técnica ELISA a los 11 días de la inoculación de CMV en las plantas de tomate, que también presentaban leves síntomas para PepMov, solo el 4.34% de las plantas indicaron la presencia de este virus.

Según Wyman et al., (2012); Atsebeha et al., (2009); y Carpio et al., (2022), *H. atriplicis* puede transmitir PepMov y PVY en plantas de quinua, presentando síntomas

como: amarillamiento parcial o total dependiendo del cantidad de virus y a la vez presentan hojas enrolladas. Las relaciones que tiene los virus y sus vectores son de gran importancia, ya que los vectores son los que ayudan con su dispersión causando pérdidas económicas (Gergerich & Dolja, 2006).

Valenzuela-Herrera y Redondo-Juárez, (2003) analizaron tubérculos enfermos de papas mediante la técnica Das ELISA para la detección de tres virus entre ellos PVY obteniendo un resultado positivo, mencionan que este resultado fue posible debido a que a la muestra se le incubó a 28°C con constante iluminación para una mayor presencia del virus. Pichardo et al., (2013) indican que obtuvieron el mayor porcentaje de infección causada por PVS y que a pesar de causar síntomas leves, es uno de los virus latentes que mayor pérdidas de cultivos ocasionan.

Tabla 1. Prueba ELISA para detectar la ausencia o presencia del *virus del mosaico de la alfalfa*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	X	X	X	X	X	X	X	X	X		*	*
B	X	X	X	X	X	X	X	X	X		*	*
C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
D	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
E	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
F	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
G	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
H	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*

X → ausencia del virus  → control negativo * → sin muestra
 + → presencia del virus  → control positivo

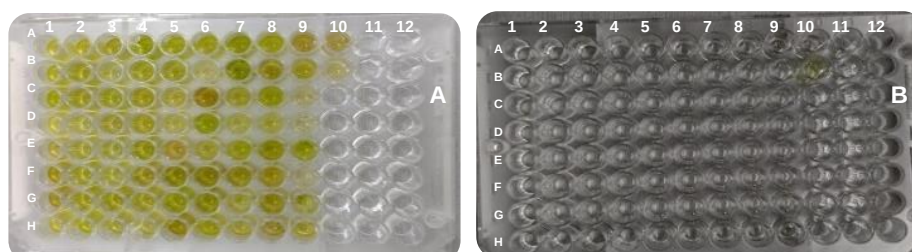


Figura 5. Placas ELISA para la detección del *virus del mosaico de la alfalfa*. Placa con muestras maceradas con el tampón de extracción general y los controles negativo y positivo (A), finalización del proceso ELISA indicando la presencia o ausencia de AMV (B).

Tabla 2. Prueba ELISA para detectar la ausencia o presencia del *virus del mosaico del pepino*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	X	X	X	X	X	X	X	X	X		*	*
B	X	X	X	X	X	X	X	X	X		*	*
C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
D	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
E	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
F	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
G	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
H	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*

X → ausencia del virus  → control negativo * → sin muestra
 + → presencia del virus  → control positivo

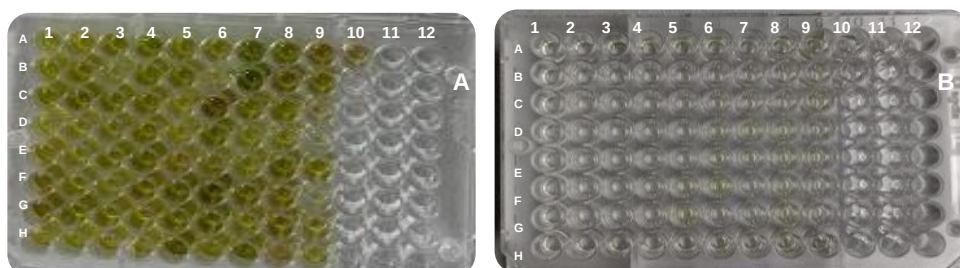


Figura 6. Placas ELISA para la detección del *virus del mosaico del pepino*. Placa con muestras maceradas con el tampón de extracción general y los controles negativo y positivo (A), finalización del proceso ELISA indicando la presencia o ausencia de CMV (B).

Tabla 3. Prueba ELISA para detectar de ausencia o presencia del *virus del moteado del pimiento*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	X	X	X	X	X	X	X	X	X		*	*
B	X	X	X	X	X	X	X	X	X		*	*
C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
D	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
E	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
F	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
G	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
H	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*

X → ausencia del virus  → control negativo * → sin muestra
 + → presencia del virus  → control positivo

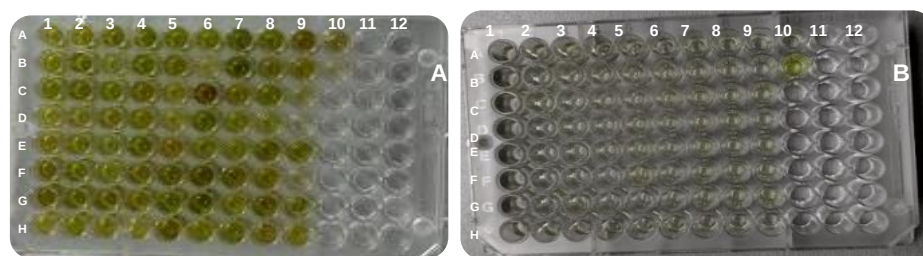


Figura 7. Placas ELISA para la detección del *virus del moteado del pepino*. Placa con muestras maceradas con el tampón de extracción general y los controles negativo y positivo (A), finalización del proceso ELISA indicando la presencia o ausencia de PepMov (B).

Tabla 4. Prueba ELISA para la detección de usencia y presencia del *virus de la papa Y*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	X	X	X	X	X	X	X	X	X		*	*
B	X	X	X	X	X	X	X	X	X		*	*
C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
D	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
E	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
F	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
G	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
H	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*

X → ausencia del virus  → control negativo * → sin muestra
 + → presencia del virus  → control positivo

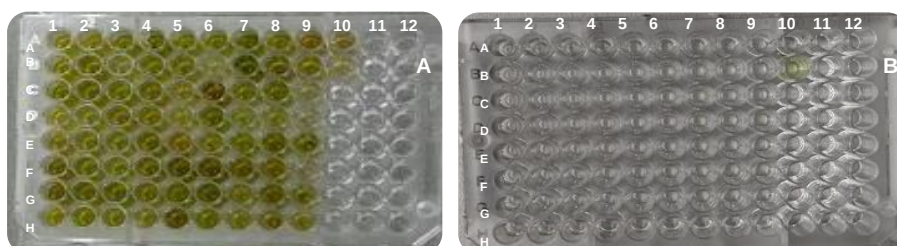


Figura 8. Placas ELISA para la detección del *virus de la papa Y*. Placa con muestras maceradas con el tampón de extracción general y los controles negativo y positivo (A), finalización del proceso ELISA indicando la presencia o ausencia de PVY (B).

Tabla 5. Prueba ELISA para la detección de usencia y presencia del *virus de la papa S*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	X	X	X	X	X	X	X	X	X		*	*
B	X	X	X	X	X	X	X	X	X		*	*
C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
D	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
E	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
F	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
G	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
H	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*

X → ausencia del virus  → **control negativo** * → **sin muestra**
+ → presencia del virus  → **control positivo**

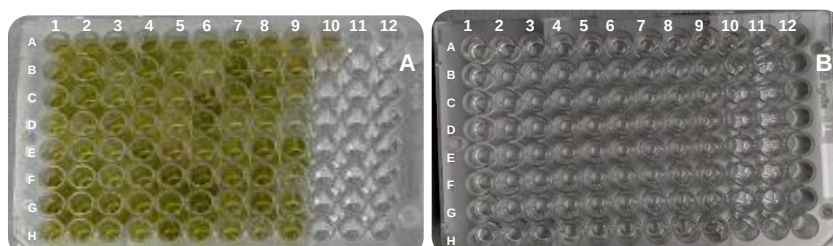


Figura 9. Placas ELISA para la detección del *virus de la papa S*. Placa con muestras maceradas con el tampón de extracción general y los controles negativo y positivo (A), finalización del proceso ELISA indicando la presencia o ausencia de PVS (B).

6.1.1 ELISA INDIRECTA

La placa ELISA para detectar al género Potyvirus reportó resultado negativo (Tabla 6). Se logró evidenciar a partir de los controles negativo y control positivo, que presentaban una coloración transparente (control negativo) y amarillo transparente (control positivo), ninguna de las columnas con muestras presentó coloración (Figura 10).

Ramírez et al., (2009) reportan un estudio en el cual la presencia del género PotyVirus fue negativo a pesar de presentar síntomas de virosis, señalando que otra partícula viral puede estar presente en las hojas de tomate de árbol analizadas. Díaz et al., (2010) indica que dependiendo de la especie afectada y las condiciones ambientales los virus pueden causar arrugamiento de las hojas y provocar oscurecimiento de las venas desde los 7 a 21 días después de la infección

Este estudio utilizó los resultados del análisis de ausencia/presencia a partir de los controles negativo y positivo. La falta de capacitación del personal permanente del laboratorio de Sanidad Vegetal del INIAP limitó el uso de los lectores de ELISA (Comentario personal M. L. Insausti).

Tabla 6. Prueba ELISA para la detección de usencia y presencia del género *PotyVirus*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	X	X	X	X	X	X	X	X	X		*	*
B	X	X	X	X	X	X	X	X	X		*	*
C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
D	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
E	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
F	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
G	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*
H	X	X	X	X	X	X	X	X	X	*	*	*

X → ausencia del virus  → control negativo * → sin muestra
 + → presencia del virus  → control positivo

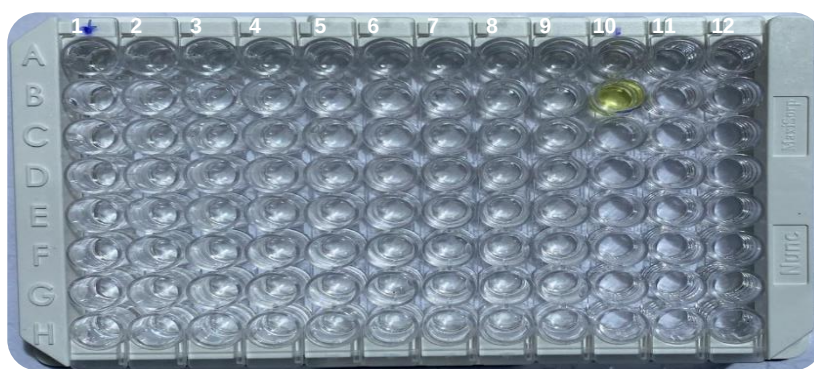


Figura 10. Placa de ELISA para la detección del género *Potyvirus*. Se puede observar el control positivo en la columna 10 fila B de coloración amarilla transparente.

6.2 REPLICACIÓN DE SÍNTOMAS EN PLANTAS DE QUINUA EN INVERNADERO

Los datos de los síntomas evaluados después de la infestación del áfido *H. atroplicis* se presentan en la Tabla 7. Se obtuvo 35% de amarillamiento de hojas, lo cual puede ser ocasionado por los pulgones que al succionar la savia de las hojas producen decoloración y crecimiento atrofiado (National Pesticide Information, 2020). Se obtuvo 100% de hojas enrolladas y 50% de plantas con decaimiento de plantas (Figura 11). Hayhurst, 1909; Pruna et al., 2023 indican que cuando el áfido se alimenta de las plantas de quinoa, se produce amarillamiento y enrollamiento de las hojas sobre su haz. Esto lo realizan para protegerse de la lluvia y del sol, creando agallas para desarrollar su ciclo de vida. Los áfidos pueden desgastar a las plantas al alimentarse del floema, ya que es el tejido responsable del transporte de los nutrientes orgánicos, principalmente azúcares producidas por la parte aérea fotosintética y autótrofa (González, 2013). *H. atroplicis* se alimenta de la parte superior de las hojas de las plantas de quinoa induciendo a que la hoja pliegue formando una pseudoagalla como una vaina (Moran & Whitham, 1990). Durante su alimentación estos inyectan saliva, la cual puede ser fitotóxica, provocando un desgaste energético en las plantas, ocasionando clorosis y afectando su capacidad fotosintética (Camara de la Industria de Argentina de Fertilizantes y Agroquímicos, 2022; Dedryver et al., 2010).

Tabla 7. Evaluación de la sintomatología presente en las plantas de quinoa

Nº. Planta	Amarillamiento	Enrollamiento	Decaimiento
1		X	X
2	X	X	X
3		X	X
4		X	
5	X	X	X
6	X	X	X
7		X	
8		X	X
9		X	

10		X	
11		X	
12		X	X
13	X	X	X
14	X	X	
15		X	
16		X	X
17		X	
18	X	X	
19		X	X
20	X	X	
Total	7	20	10
Porcentaje	35%	100%	50%
X → presencia del síntoma			

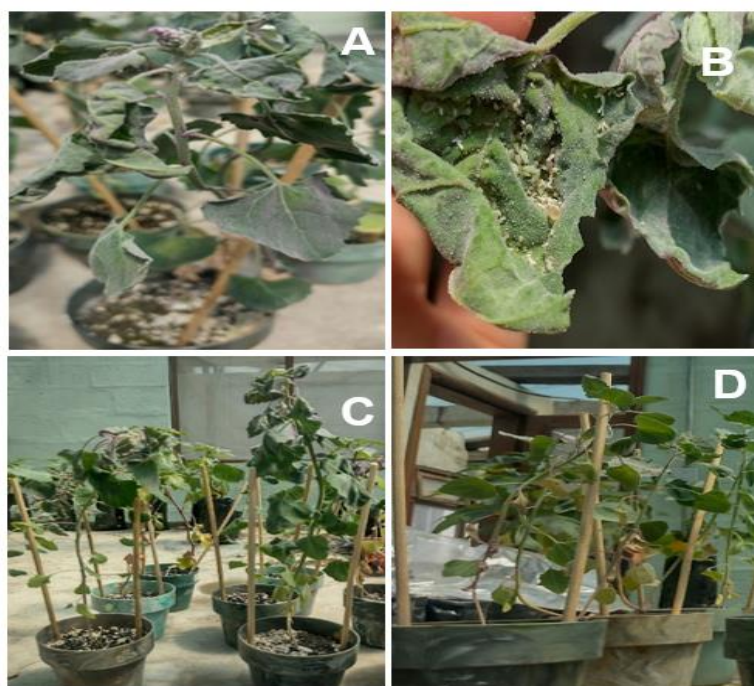


Figura 11. Plantas de quinua con sintomatología. Hojas con enrollamiento (A), áfidos dentro de una hoja enrollada (B), marchitamiento de las plantas (C) y clorosis de las hojas (D).

En el enrollamiento de las hojas se puede observar presencia masiva de los áfidos, esto indica que se alimentan de las plantas. No se puede observar la presencia de huevos o de momias (Figura 12). Pruna et al., 2023 señalan que en su estudio *H. atriplicis* solo presentó reproducción asexual debido a la ausencia de huevos. Quinet et al., 1997 mencionan que se encontraron momias de parasitoides de *H. atriplicis* ya emergidos, en nuestro caso no pudimos observar dichas momias posiblemente se requería que el áfido se encuentre más tiempo en las plantas y un ambiente abierto. Como se esperaba la planta control o testigo no presentó ninguno de los síntomas anteriormente mencionados.



Figura 12. Observación de *H. atriplicis* dentro del enrollamiento. Hojas sin presencia de huevos o momias

7 CONCLUSIONES

Las plantas de quinua obtenidas para esta investigación en la provincia de Chimborazo no presentaron infecciones virales al realizar las pruebas de ELISA para los virus del género *Potyvirus*, *Virus del mosaico de la alfalfa* (AMV), *Virus del mosaico del pepino* (CMV), *Virus del moteado del pimiento* (PepMov), *Virus de la papa Y* (PVY) y *Virus de la papa S* (PVS).

La sintomatología presente en las plantas de quinua es causada por la presencia de *H. atriplicis* provocando daños como el decaimiento de la planta, amarillamiento y enrollamiento de las hojas.

8 RECOMENDACIONES

Se recomienda el uso de biocontroladores para evitar que *H. atriplicis* se propague entre los cultivos de la provincia de Chimborazo y otras provincias del Ecuador que también producen quinua y en las cuales todavía no hay registro de su presencia.

Realizar estudios de metagenómica en este y otras especies de áfidos para comprobar el contenido interior de estos insectos y descartar su transmisión por este tipo de vectores.

9 REFERENCIAS

- Acosta, M. B. (2019). *TRASPLANTAR una PLANTA: Cuándo y Cómo hacerlo*.
ecologiaverde.com. <https://www.ecologiaverde.com/trasplantar-una-planta-cuando-y-como-hacerlo-1941.html>
- Agdia, Inc. (2021). *ELISA Reagent Set for Alfalfa mosaic virus (AMV)*.
<https://orders.agdia.com/agdia-set-amv-alkphos-sra-87601>
- Agencia de Regulacion y Control Fito y Zoonosanitario. (2018). *TOMA DE MUESTRAS PARA EL LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA*.
<https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/dxi3.pdf>
- Ahumada, A., Ortega, A., Chito, D., & Benítez, R. (2016). Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): Un subproducto con alto potencial biológico. *Revista Colombiana de Ciencias Químico - Farmacéuticas*, 45(3), 438-469.
<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v45n3.62043>
- Camara de la Industria de Argentina de Fertilizantes y Agroquímicos. (2022). *Cultivos de invierno: Recomendán aumentar el monitoreo por la presencia de gusanos blancos y pulgones*. <https://www.manualfitosanitario.com/noticias/2813>
- Carpio, C., Muñoz, D., Pruna, W., Morocho, G., & Leguizamo, A. (2022). *Manejo Integrado De Plagas Con Enfoque Coonsevativo MIP-EC*.
https://cefaecuador.org/wp-content/uploads/2022/07/Manual-MIP-EC_Quinoa.pdf
- Dedryver, C.-A., Le Ralec, A., & Fabre, F. (2010). The conflicting relationships between aphids and men: A review of aphid damage and control strategies. *Comptes Rendus Biologies*, 333(6), 539-553.
<https://doi.org/10.1016/j.crvi.2010.03.009>
- Díaz, A., Quiñones, M., Arana, F., Soto, M., & Hernández, A. (2010). POTYVIRUS: CARACTERÍSTICAS GENERALES, SITUACIÓN DE SU DIAGNÓSTICO Y DETERMINACIÓN DE SU PRESENCIA EN EL CULTIVO DEL PIMIENTO EN CUBA. *Revista de Protección Vegetal*, 25(2), 69-79.
- Enriquez, C. (2018). *La quinua perdió protagonismo por baja en el mercado mundial*.
<http://www.revistalideres.ec/lideres/quinua-menorprotagonismo-mercado-ecuador-produccion.html>

- Ganchozo Quimis, M. T., Ponce Pincay, J. J., Manrique Tóala, T. O., Chávez Chóez, M. G., & Pionce Andrade, V. J. (2018). *Sanidad vegetal* (1.^a ed.). Editorial Científica 3Ciencias. <https://doi.org/10.17993/CcyLI.2018.18>
- García-Parra, M. Á., Plazas-Leguizamón, N. Z., Rodríguez, D. C. C., Torrado, S. K. F., & Parra, J. D. (2018). Descripción de las saponinas en quinua (*Chenopodium quinoa willd*) en relación con el suelo y el clima: Una revisión. *Informador Técnico*, 82(2), 241-249.
- Gergerich, R., & Dolja, V. (2006). *Introducción a los Virus Vegetales, el Enemigo Invisible*. Introducción a Los Virus Vegetales, El Enemigo Invisible. <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/viral/introduction/Pages/PlantVirusesEspanol.aspx>
- Gómez, L., & Aguilar, E. (2016). *Guía de Cultivo de La Quinua*. FAO y Universidad Nacional Agraria La Molina. <https://es.scribd.com/document/336577921/Guia-de-Cultivo-de-La-Quinua>
- Gonzalez, A. M. (2013). *FLOEMA*. Morfología de plantas vasculares. <http://www.biologia.edu.ar/botanica/tema16/16-1.htm>
- Guzmán-Vázquez, E. (2004). V. Las pruebas de Elisa. *Gaceta Medica de Mexico*, 104(3).
- Hayhurst, P. (1909). Observations on a Gall Aphid (*Aphis Atriplicis* L.).*. *Annals of the Entomological Society of America*, 2(2), 88-99. <https://doi.org/10.1093/aesa/2.2.88>
- Hayhurst, P. (2016). Observations on a Gall Aphid (*Aphis Atriplicis* L.).*. *Annals of the Entomological Society of America*, 2(2), 88-99. <https://doi.org/10.1093/aesa/2.2.88>
- Ibarra Velásquez, A. (2019). Estudio de mercado de quinua para su exportación a la Unión Europea. *Observatorio de la Economía Latinoamericana*, julio. <https://www.eumed.net/rev/oel/2019/07/estudio-mercado-quinua.html>
- InfluentialPoints. (2013). *Hayhurstia atriplicis*. https://influentialpoints.com/Gallery/Hayhurstia_atriplicis_chenopodium_aphid.htm#damage
- La Prensa. (2021, octubre 8). Más de mil familias viven de la producción de quinua en Chimborazo. *La Prensa Diario Riobamba*. <https://www.laprensa.com.ec/miles-de-familias-viven-de-la-quinua/>

- Lacasa, A., Guerrero, M. M., Hita, I., Martínez, M. A., & Hernández, M. D. (2001). La diseminación del virus del mosaico del pepino dulce (Pepino Mosaic Virus) en las labores de entutorado y desbrotado de las plantas de tomate. *Boletín de sanidad Vegetal. Plagas*, 27, 489-501.
- Leguizamo, A., & Morocho, G. (2020). *Manual de Buenas Prácticas Agrícolas. Cultivo de Quinoa—Chimborazo*. Comité europeo para la Formación y la Agricultura. https://cefaecuador.org/wp-content/uploads/2021/02/3_Manual-BPA-Quinoa.pdf
- Lezaun, J. (2016). *Áfidos” o Pulgones los temibles enemigos del trigo y los cereales*. CropLife Latin America. <https://www.croplifela.org/es/plagas/listado-de-plagas/pulgon-de-la-espiga>
- Lorenzo, D. (2016). Manejo integrado de pulgones en cultivos hortícolas al aire libre. *Ingeniería del agua*, 18(1), ix. <https://doi.org/10.4995/ia.2014.3293>
- Mathieu, M. (2019). *ELISA: ¿Qué es? ¿En qué consiste? ¿Cuáles son los distintos tipos de este ensayo y en qué se diferencian?* AllScience. <https://www.e-allscience.com/blogs/articulos/elisa-que-es-en-que-consiste-cuales-son-los-distintos-tipos-de-este-ensayo-y-en-que-se-diferencian>
- Ministerio de Agricultura. (s. f.). *INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO VIRUIS Y VIROIDES EN TEJIDO VEGETAL PARA EL PROGRAMA DE CERTIFICACIÓN DE PLANTAS FRUTALES*. Gobierno de Chile. Recuperado 30 de noviembre de 2021, de https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/instructivo_tecnico_para_el_diagnostico_de_virus_y_viroides_en_tejido_vegetal_para_el_programa_de_certificacion_de_plantas_frutales.pdf
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2020). *Resumen Ejecutivo de los Diagnósticos Territoriales del Sector Agrario*. Ministerio de Agricultura y Ganadería. https://www.agricultura.gob.ec/wp-content/uploads/2020/08/Resumen-Ejecutivo-Diagn%C3%B3sticos-Territoriales-del-Sector-Agrario_14-08-2020-1_compressed.pdf
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2022). *En Chimborazo, se fortalece la cadena de valor de la quinoa*. <https://www.agricultura.gob.ec/en-chimborazo-se-fortalece-la-cadena-de-valor-de-la-quinoa/>

- Moran, N. A., & Whitham, T. G. (1990). Interspecific Competition between Root-Feeding and Leaf-Galling Aphids Mediated by Host-Plant Resistance. *Ecology*, 71(3), 1050-1058. <https://doi.org/10.2307/1937373>
- National Pesticide Information. (2020). *Áfidos*. <http://npic.orst.edu/pest/aphid.es.html>
- National Pesticide Information Center. (2020). *Áfidos*. <http://npic.orst.edu/pest/aphid.es.html>
- Ochoa, A. (2021). *Tips para trasplantar tus plantas correctamente y no fracasar en el intento*. Architectural Digest. <https://www.admagazine.com/estilo-de-vida/como-trasplantar-tus-plantas-correctamente-20210301-8193-articulos>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2011). *La quinua: Cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial*. 66.
- Pérez-Moreno, L., Niño-Mendoza, G. H., & Navarro-León, M. J. (2016). *DETECCIÓN DE COMPLEJOS PATOGENICOS VIRALES EN LECHUGA POR ELISA Y CONFIRMADOS POR RT-PCR*. 41.
- Pichardo, E., Camacho, B., Quintero, A., Meza, N., & Flores, E. (2013). *Detección de los principales virus en brotes de tubérculos y vitroplantas de papa por la técnica DAS-ELISA*. 63.
- Pinto, M. (s. f.). *El cultivo de la quinua y el clima en el Ecuador.pdf*. Instituto Nacional Meteorología e Hidrología. Recuperado 29 de noviembre de 2021, de <https://www.inamhi.gob.ec/meteorologia/articulos/agrometeorologia/El%20%20cultivo%20de%20la%20quinua%20y%20el%20clima%20en%20el%20Ecuador.pdf>
- Pruna, W., Peña-Martínez, R., Barragán, Á., Carpio, C., Muñoz, D., Arévalo, G. M., & Leguizamo, A. (2023). El Primer Registro de Hayhurstia atriplicis en Chenopodium Quinoa para Ecuador y América del Sur. *ECUADOR ES CALIDAD*, 10(1), Article 1. <https://doi.org/10.36331/revista.v10i1.157>
- Quinet, Y., de Biseau, J.-C., & Pasteels, J. M. (1997). Food recruitment as a component of the trunk-trail foraging behaviour of Lasius fuliginosus (Hymenoptera: Formicidae). *Behavioural Processes*, 40(1), 75-83. [https://doi.org/10.1016/S0376-6357\(97\)00773-0](https://doi.org/10.1016/S0376-6357(97)00773-0)
- Ramírez, J. F. G., Vásquez, M. L. A., Montoya, M. M., & Jaimes, E. P. G. (2009). Identificación de Potyvirus en cultivos de tomate de árbol (Polanum Betaceum Cav.) en Antioquia mediante detección serológica. *Revista Politécnica*, 5(8), Article 8.

- Riquelme, A. (2018). Nutricionistas UC promueven la Quínoa. *Carrera Nutrición y Dietética*. <https://nutricion.uc.cl/noticias/nutricionistas-uc-promueven-la-quinoa/>
- Roma. (2001). *EL ESTADO MUNDIAL DE LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN* (ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN). <https://www.fao.org/3/x9800s/x9800s16.htm>
- Simbaña, E., & Andrade, J. (2011). *Control de Insectos Plaga con Microorganismos Entomopatógenos en el cultivo de Quinoa (Chenopodium quinoa)*. 7, 9-13.
- Soltani, N., Staton, M., & Gwinn, K. D. (2021). Response of bitter and sweet *Chenopodium quinoa* varieties to cucumber mosaic virus: Transcriptome and small RNASeq perspective. *PLOS ONE*, 16(2), e0244364. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244364>
- Soto, E., Mercado, W., Estrada, R., Repo, R., Díaz, F., & Díaz, G. (2015). *El mercado y la producción de quinua en el Perú*. <https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/2652/BVE17038730e.pdf;jsessionid=6BF91F0057A28844AEBD39C24CB19063?sequence=1>
- Terrile, R. (2010). *Biopreparados para el manejo sostenible de plagas y enfermedades en la agricultura urbana y periurbana*.
- Valenzuela-Herrera, V., & Redondo-Juárez, E. (2003). Detección de Virus por Serología y Plantas Indicadoras en el Tubérculo-Semilla y Plantas de Cultivo de Meristemas en Papa (*Solanum tuberosum* L.) var. Alfa. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(2), 176-180.
- Villacide, J., & Masciocchi, M. (2014). *Pulgones*.
- Zurita-Silva, A., & Quiroz, C. (2016). *Plagas y enfermedades en el cultivo de quínoa*. 17.