

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE AGRONOMÍA**  
**ÁREA INTEGRADA**



**GUATEMALA, JULIO DE 2019**



**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**ÁREA INTEGRADA**

**EFECTO DE TRES EXTRACTOS VEGETALES DE PLANTAS PROVENIENTES DE LA  
ALDEA EL PINALITO SOBRE EL CONTROL *IN VITRO* DE *Fusarium oxysporum*  
Schltdl. DIAGNOSTICO Y SERVICIOS REALIZADOS EN LA FINCA BUENOS AIRES  
EN SAN PEDRO PINULA, JALAPA, GUATEMALA C.A.**

**PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE  
AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.**

**POR**

**SHEILA ORALIS MÉNDEZ CHINCHILLA**

**EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO**

**INGENIERO AGRÓNOMO**

**EN**

**SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

**EN EL GRADO ACADÉMICO DE**

**LICENCIADO**

**GUATEMALA, JULIO DE 2019**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**RECTOR**

**Ing. MURPHY PAIZ**

**JUNTA DIRECTIVA FACULTAD DE AGRONOMÍA**

<b>DECANO</b>	<b>Ing. Agr. Mario Antonio Godínez López</b>
<b>VOCAL I</b>	<b>Dr. Tomás Antonio Padilla Cámara</b>
<b>VOCAL II</b>	<b>Dr. Gricelda Lily Gutierrez Alvarez</b>
<b>VOCAL III</b>	<b>Ing. Agr. M. A. Jorge Mario Cabrera Madrid</b>
<b>VOCAL IV</b>	<b>P. Electr. Carlos Waldemar León Samayoa</b>
<b>VOCAL V</b>	<b>P. Agr. Marvin Orlando Sicajaú Pec</b>
<b>SECRETARIO</b>	<b>Ing. Agr. Juan Alberto Herrera Ardón</b>

**GUATEMALA, JULIO DE 2019**

Guatemala, julio de 2019

Honorable Junta Directiva  
Honorable Tribunal Examinador  
Facultad de Agronomía  
Universidad de San Carlos de Guatemala

Honorables miembros:

De conformidad con las normas establecidas por la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración, el trabajo de graduación: **EFFECTO DE TRES EXTRACTOS VEGETALES DE PLANTAS PROVENIENTES DE LA ALDEA EL PINALITO SOBRE EL CONTROL *IN VITRO* DE *Fusarium oxysporum* Schltdl. DIAGNOSTICO Y SERVICIOS REALIZADOS EN LA FINCA BUENOS AIRES EN SAN PEDRO PINULA, JALAPA, GUATEMALA C.A.** Como requisito previo a optar al título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciatura.

Esperando que el mismo llene los requisitos necesarios para su aprobación, me es grato suscribirme.

Atentamente.

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”

---

SHEILA ORALIS MÉNDEZ CHINCHILLA

## **ACTO QUE DEDICO**

### **SANTÍSIMA TRINIDAD**

Dios padre, Dios hijo y Dios Espíritu Santo, pilar fundamental en mi vida, siempre me diste el discernimiento para seguir adelante, me corriges cuando lo necesito, gracias por tus enseñanzas Padre, tú que has sido mi guía, quién me dió las fuerzas para poder seguir con mis sueños, sé que siempre estarás a mi lado, TE AMO DIOS.

### **A MI MAMI**

Delia Rossana Chinchilla, quién con mucho amor, esfuerzo y sabiduría supo encaminarme y dejar que junto a Dios pudiera perseguir mis sueños.

### **A MI ABUELA**

Carmen Chalín, con su confianza y apoyo siempre creyó que podía lograrlo, a pesar de sus drásticos cambios humor, siempre estuvo ahí para mi.

### **A MI FAMILIA**

Carfra Cartí mi madrina, con sus consejos y apoyo incondicional fortaleció mis fuerzas para seguir Adelante, Carmel Coriny gracias por siempre creer que podía hacerlo. Tía Lesly y Wayla, tío Robi y Catalino, Ardanis Chamalé por ayudarme en los momentos que más necesite.

### **A MIS PAPAS**

Elmer Amilcar Chamalé Batres, quién lastimosamente ya no esta acá, pero soñaba con que estuviera, sé que desde el cielo me está viendo y espero se sienta orgulloso como siempre lo estuvo, esto es para usted, siempre estará en mi corazón. tío Antonio López, gracias por sus oraciones, consejos, enseñanzas por suplir el papel de padre. Tío Geovany Chinchilla, gracias por el amor que siempre me compartió y apoyarme en los momentos que necesite.

### **A MIS AMIGOS**

A todos les agradezco mucho por brindarme su amistad incondicional, apoyarme cuando los necesité, por enseñarme muchas virtudes y ayudarme a deshacerme de muchas cosas que no necesitaba, gracias Adriana Montejo, Belveth, Debby, Virginia Piril, Clarita, Javier (Xavi) y en especial a mi mejor amigo Wilmer Barrera, te amo con todo mi corazón.

## AGRADECIMIENTOS

**A Dios**, por formarme desde el vientre de mi madre y ser guía en todo el recorrido de mi vida, eres mi fuente de sabiduría y fortaleza.

**A mi familia**, mamita te quiero mucho por haber confiado en mí siempre, acá está el resultado, mi abuelita quién siempre me apoyo en todo.

**A mis tías y tíos**, por apoyarme y ser parte de los pilares fundamentales de mi vida.

**A Elmer Amilcar Chamalé**, por ser una persona muy especial en mi vida gracias por siempre creer que podía hacerlo, sé que no puedo ver su expresión al escucharme, hubiese deseado de todo corazón que estuviese presente, siempre lo llevaré en mi corazón todo lo que hizo por mi.

**Wilmer Barrera**, por alentarme a siempre hacer un trabajo de excelencia.

**A la Universidad de San Carlos de Guatemala**, por permitirme ser parte de esta gloriosa y bendecida universidad.

**A la Facultad de Agronomía**, por ser un ente formador de Ingenieros agrónomos.

**A mi Asesor**, Dr. Vicente Martínez por apoyarme y siempre alentarme a hacer el trabajo de calidad y terminar todo el proceso de EPS y a el equipo de LIPRONAT.

**A mis profesores**, Dr. Fraco por siempre alentarme a seguir adelante y a instruirnos, a Ing. Saquimux por apoyarme y enseñarme como razonar, Ing. Marino Barrientos por ser una excelente persona, Ing. Ligia Monterroso, Ing. Juan Herrera, gracias a todos por ser grandes personas que inspiran a ser excelentes profesionales, que por su experiencia lo orientan por buenas decisiones.

**A la Escuela Nacional Central de Agricultura**, por ser un ente formador por excelencia.

**A STEVIART**, por ser una empresa que abrió las puertas para que mi formación como Ingeniera Agrónoma terminara y al Ing. Mansilla por creer en mi trabajo.

## INDICE

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
RESUMEN.....	xii
1.CAPÍTULO I	
DIAGNÓSTICO	
ÁREA DE INVESTIGACIÓN DE LA FINCA BUENO AIRES, STEVIART; ALDEA EL PINALITO SAN PEDRO PÌNULA, JALAPA .....	1
1.1 PRESENTACIÓN .....	2
1.2 MARCO REFERENCIAL .....	3
1.3 OBJETIVOS .....	5
1.3.1 General.....	5
1.3.2 Específicos .....	5
1.4 PARA EL CUMPLIMIENTO DE TODOS LOS OBJETIVOS SE REALIZÓ ÚNICA METODOLOGÍA QUE SE DESCRIBE A CONTINUACIÓN .....	6
1.4.1 Diseño muestral y levantamiento de la encuesta .....	6
1.4.2 Elementos determinantes para el tamaño de muestra .....	7
1.4.3 Procesamiento de los datos:.....	8
1.5 RESULTADOS .....	8
1.5.1 Situación de la producción agrícola: .....	8
1.5.2 Características de los productores:.....	9
1.5.3 Sexo y alfabetismo de productores (as).....	9
1.5.4 Condición del terreno cultivado por los productores agrícolas .....	10
1.5.5 Área sembrada, tenencia y producción media de cultivos .....	11
1.5.6 Riego y fuentes de agua .....	16
1.5.7 Nutrición de los cultivos y tipos de fertilizantes .....	17
1.5.8 Plagas y enfermedades .....	19



<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
1.5.9 Insecticidas, fungicidas y frecuencias de aplicación utilizadas por los productores.....	20
1.5.10 Ganadería .....	21
1.5.11 Aspectos generales del diagnóstico .....	22
1.6 CONCLUSIONES.....	23
1.7 RECOMENDACIONES.....	23
1.8 BIBLIOGRAFÍA.....	24
2 CAPÍTULO II	
INVESTIGACIÓN	
EVALUACIÓN DE TRES EXTRACTOS VEGETALES DE PLANTAS	
PROVENIENTES DE LA ALDEA EL PINALITO, SAN PEDRO PÍNULA JALAPA	
SOBRE EL CONTROL IN VITRO DE <i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl. ....	25
2.1 PRESENTACIÓN .....	26
2.2 MARCO CONCEPTUAL.....	27
2.2.1 Propiedades antifúngicas de plantas superiores.....	27
2.2.2 Extractos vegetales .....	28
2.2.3 Metabolito secundario.....	28
2.2.4 Antecedentes relacionados con investigaciones de extractos de plantas para el control de hongos fitopatógenos .....	28
2.2.5 Descripción botánica de <i>Mimosa ursina</i> Mart.....	29
2.2.6 Taxonomía según Beltrán (s.f.).....	30
2.2.7 Extractos vegetales del género <i>Mimosa</i> para el control de fitopatógenos .....	30
2.2.8 Descripción botánica de <i>Ocimum micranthum</i> Wild. ....	31
2.2.9 Taxonomía Academic (2010).....	32
2.2.10 Extractos vegetales del género <i>Ocimum</i> .....	32

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
2.2.11 Descripción botánica de <i>Acacia farnesiana</i> (L.) Willd. ....	32
Taxonomía según Academic (2010).....	33
2.2.12 Extractos vegetales del género <i>Acacia</i> para el control de fitopatógenos.....	33
2.2.13 Control de <i>Fusarium</i> spp. con extractos vegetales .....	34
2.2.14 <i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl. ....	34
2.2.15 Aislamiento del patógeno .....	42
2.2.16 Tamizaje antimicótico <i>in vitro</i> .....	44
A. Primera parte.....	44
B. Segunda parte .....	45
2.4 OBJETIVOS .....	46
2.4.1 Objetivo general .....	46
2.4.2 Objetivos específicos.....	46
2.5 HIPÓTESIS .....	46
2.6 METODOLOGÍA.....	47
2.6.1 Para el cumplimiento del objetivo específico uno se utiliza la metodología para la obtención de extractos vegetales y su evaluación en la inhibición de <i>F. oxysporum</i> .....	47
2.6.2 Colecta del material vegetal.....	47
2.6.3 Determinación de porcentaje de humedad en las especies evaluadas: .....	48
2.6.4 Prueba de mejor solvente .....	48
2.6.5 Aislamiento, purificación e identificación de <i>F. oxysporum</i> .....	50
2.6.6 Colecta de material vegetal infectado .....	50
2.6.7 Preparación de cristalería y medios de cultivo .....	51

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
2.6.8 Aislamiento y purificación del hongo .....	51
2.6.9 Identificación cualitativa de metabolitos secundarios .....	52
2.6.10 Identificación de alcaloides .....	52
2.6.11 Investigación de flavonoides y antocianinas .....	53
2.6.12 Identificación de antocianinas .....	54
2.6.13 Identificación de cumarinas .....	54
2.6.14 Identificación de esteroides y triterpenos .....	55
2.6.15 Identificación de taninos .....	55
2.6.16 Identificación de principios amargos .....	56
2.6.17 Tamizaje antimicótico <i>in vitro</i> .....	56
2.6.18 Para el cumplimiento del objetivo específico dos se realiza la identificación de estados de desarrollo del hongo <i>F. oxysporum</i> .....	58
2.6.19 Para el cumplimiento de los objetivos específicos uno y dos se realizó la siguiente metodología experimental .....	58
2.6.20 Modelo estadístico .....	59
2.7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	60
2.7.1 Identificación cualitativa de los metabolitos secundarios de los extractos .....	60
2.8 Tamizaje fitoquímico .....	61
2.8.1 Efectividad combinada e individual de los extractos evaluados a través del crecimiento micelial .....	63
2.8.2 Estadios del hongo <i>Fusarium</i> en respuesta a los diferentes tratamientos .....	67
2.9 CONCLUSIONES .....	71
2.10 RECOMENDACIONES .....	72
2.11 BIBLIOGRAFÍA .....	73
2.12 ANEXOS .....	83

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
2.12.1 Prueba de mejor solvente.....	83
2.12.2 Aislamiento de <i>Fusarium oxysporum</i> .....	87
2.12.3 Tamizaje fitoquímico de extractos y evaluación de extractos .....	88
2.12.4 Análisis de varianza.....	90
2.12.5 Resultados finales de colonización del hongo <i>Fusarium oxysporum</i> .....	93
<b>3    CAPÍTULO III</b>	
<b>SERVICIOS</b>	
IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES VEGETALES DE LA FINCA BUENOS AIRES..	95
3.1   PRESENTACIÓN .....	96
3.2   SERVICIOS PRESTADOS .....	97
3.2.1 Identificación de especies vegetales de la finca “Buenos Aires” .....	97
3.2.2 Implementación de sop para muestreo de agua con fines de riego agrícola.....	119
3.2.3 Implementación de SOP para muestreo foliar.....	125
4.1.2.1 Metodología de muestreo foliar en <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.....	126

## INDICE DE CUADROS

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
Cuadro 1. Porcentaje de alfabetismo y analfabetismo.....	9
Cuadro 2. Producción de maíz y frijol.....	11
Cuadro 3. Producción media de hortalizas.....	11
Cuadro 4. Producción de hortalizas vendidas por docenas.....	12
Cuadro 5. Fuentes de almacenamiento de agua para riego.....	16
Cuadro 6. Porcentajes de utilización de fertilizantes inorgánicos y orgánicos.....	18
Cuadro 7. Enfermedades que se presentan con mayor frecuencia en el cultivo de maíz.....	19
Cuadro 8. Insecticidas utilizados para el control de plagas por los agricultores.....	20
Cuadro 9. Fungicidas utilizados en la aldea El Pinalito.....	21
Cuadro 10. Porcentaje de rendimiento de material vegetal a extracto en seco.....	60
Cuadro 11. Tamizaje fitoquímico a nivel macro.....	61
Cuadro 12. Resultados de cromatografías.....	62
Cuadro 13. Crecimiento de micelio en cm de <i>F. oxysporum</i> .....	63
Cuadro 14. ANDEVA para los tratamientos individuales.....	63
Cuadro 15. Análisis post-ANDEVA de los tratamientos.....	64
Cuadro 16. Análisis de varianza como un modelo completo al azar con arreglo combinatorio (bifactorial).....	64
Cuadro 17. Comparación múltiple de medias entre las especies de plantas y la concentración sobre el diámetro de crecimiento del micelio de hongo.....	65
Cuadro 18. Porcentaje de inhibición de crecimiento del hongo.....	65
Cuadro 19. Porcentaje de humedad de las plantas utilizadas para los extractos.....	83
Cuadro 20. Parámetros necesarios para la obtención de una buena muestra de riego...	120

## INDICE DE FIGURAS

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
Figura 1. Mapa de la aldea El Pinalito en San Pedro Pínula Jalapa.....	4
Figura 2. Porcentaje de alfabetismo en productores agrícolas.....	10
Figura 3. Total área sembrada por cultivo, frecuencia de siembra del cultivar.....	13
Figura 4. Promedio de área sembrada de maíz y frijol.....	13
Figura 5. Promedio de área sembrada hortalizas (ha).....	14
Figura 6. Rendimiento medio de frijol y maíz en kg/ha.....	14
Figura 7. Producción de hortalizas de hoja en manos/ha.....	15
Figura 8. Producción media de brasicas por ha.....	15
Figura 9. Fuentes de almacenamiento de agua para riego.....	17
Figura 10. Tipo de fertilizante utilizado.....	18
Figura 11. Tipo de fertilizantes orgánicos utilizados.....	18
Figura 12. Enfermedades presentes con mayor frecuencia.....	20
Figura 13. Fungicidas utilizados por los agricultores.....	21
Figura 14. Mimosa ursina encontrada en la Finca Buenos Aires, San Pedro Pínula.....	30
Figura 15. Ocimum micranthum, hábitat natural en San Pedro Pínula, Jalapa.....	31
Figura 16. A. farnesiana en la fina Buenos Aires, San Pedro Pínula.....	33
Figura 17. Características macro y microscópicas para identificar de <i>Fusarium</i> .....	35
Figura 18. Síntomas de una planta enferma.....	38
Figura 19. Ciclo de la enfermedad causada por <i>Fusarium spp</i> .....	39
Figura 20. Preparación de medios de cultivo sólidos en cajas petri y tubos de ensayo.....	42
Figura 21. Aislamiento de hongos patógenos del tejido de planta infectada.....	43
Figura 22. Proceso para el tamizaje de hongos fitopatógenos.....	44
Figura 23. Inoculación de hongos filamentosos en placa.....	45
Figura 24. a) <i>M. ursina</i> b) <i>O. micranthum</i> c) <i>A. farnesiana</i> .....	47
Figura 25. Clamidiosporas vistas a 40x desarrolladas en el extracto de <i>M. ursina</i> .....	67
Figura 26. Conidias tamaño 0.4 $\mu\text{m}$ en el tratamiento de <i>M. ursina</i> a 0.01 g/mL.....	67
Figura 27. Conidias vistas a 40x en el extracto de <i>M. ursina</i> a 0.005 g/mL.....	67
Figura 28. Microconidias vistas a 40x <i>O. micranthum</i> a 0.005g/mL.....	68

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
Figura 29. Conidias de 0.5 $\mu\text{m}$ vistas a 40x en <i>A. farnesiana</i> a 0.01 g/mL. ....	68
Figura 30. Conidias de 0.5 $\mu\text{m}$ vistas a 40x en <i>A. farnesiana</i> a 0.015 g/mL. ....	68
Figura 31. Conidias vistas a 40x en <i>A. farnesiana</i> a una concentración de 0,05 g/mL. ....	69
Figura 32. Microconidias vistas a 40x en <i>O. micranthum</i> a 0.015 g/mL. ....	69
Figura 33. Microconidias vistas a 40x en <i>O. micranthum</i> a 0.01 g/mL. ....	69
Figura 34. Conidias desarrolladas en el testigo absoluto. ....	70
Figura 35A. Secado de material vegetal. ....	83
Figura 36A. Prueba de mejor solvente. ....	84
Figura 37A. Obtención de la tintura del material vegetal. ....	84
Figura 38A. Secado y tara de los crisoles. ....	85
Figura 39A. Preparación del percolador para obtención de tintura. ....	86
Figura 40A. Utilización del rotavapor para la obtención del extracto seco. ....	86
Figura 41A. Sintomatología de <i>F. oxysporum</i> en plantas de tomate. ....	87
Figura 42A. Tren de desinfección. ....	87
Figura 43A. Identificación de <i>F. Oxysporum</i> . ....	88
Figura 44A. Extractos en seco. ....	88
Figura 45A. Proceso de obtención de extractos diluidos en etanol al 50% ....	89
Figura 46A. Identificación macro de cumarinas. ....	89
Figura 47A. Identificación micro de cumarinas. ....	90
Figura 48A. Gráfica de medias con el grupo Fisher. ....	90
Figura 49A. Resultados de prueba de Shapiro Wilks ....	91
Figura 50A. Gráfica de predichos contra residuos. ....	91
Figura 51A. Gráfica de QQ-Plot. ....	92
Figura 52A. Gráfico de medias del crecimiento con base a la interacción. ....	92
Figura 53A. Prueba de Shapiro-Wilks para el ANDEVA del arreglo factorial. ....	93
Figura 54A. Crecimiento de las colonias de <i>F. oxysporum</i> en cajas. ....	93
Figura 55. Crecimiento de las colonias de <i>F. oxysporum</i> en cajas petri a 0.015 g/mL. ....	94
Figura 56. Crecimiento de las colonias de <i>F. oxysporum</i> en cajas petri. ....	94
Figura 57. Materiales para el muestreo de agua. ....	121
Figura 58. Diagrama básico de la metodología de ....	122

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
Figura 59. Ejemplo de etiqueta de identificación de muestras de agua. ....	123
Figura 60. Muestra de agua, tomada de forma incorrecta. ....	123
Figura 61. Patrón de muestreo. ....	126
Figura 62. a) Estado vegetativo .....	127
Figura 63. Toma de muestra, con referencia a los puntos cardinales.....	128
Figura 64. Toma del follaje para la submuestra.....	128
Figura 65. Empaque para el transporte de muestra foliares .....	129
Figura 66. Ejemplo de identificación para el muestreo. ....	129



## RESUMEN

En este documento se presentan las actividades realizadas como parte del Ejercicio Profesional Supervisado de Agronomía -EPSA- en el periodo comprendido de febrero a noviembre del 2016, que se realizó en el área de investigación agrícola de la finca Buenos Aires ubicada en la aldea El Pinalito en el municipio de San Pedro Pinula, Jalapa.

Este comprende tres apartados identificados por capítulos que se representan a continuación; en el capítulo uno se encuentra el diagnóstico que se realizó en la aldea El Pinalito. Contiene datos del contexto de la comunidad y de la situación agrícola, donde el 48.19 % de los agricultores utiliza terrenos arrendados, lo cual indica la falta de terreno propio para cultivar, otro de los datos que se pueden resaltar es el efecto del cambio climático específicamente por las prolongadas canículas que afectan la producción de los cultivos, encontrando la producción de maíz que está por debajo de la producción a nivel nacional.

También cabe mencionar que las principales hortalizas que siembran son, rábano (*Raphanus sativus* L.), chipilín (*Crotalaria longirostrata* Hook y Arnott), bledo (*Amaranthus* spp.) que se utilizan para autoconsumo y abastecer el mercado de San Pedro Pinula.

En capítulo dos se presenta la investigación realizada debido a las necesidades presentadas por la empresa en donde se tomaron tres plantas que se caracterizaban por su abundancia en la finca, que fueron identificadas, de estas se realizaron tres extractos que se utilizaron para el control *in vitro* de *F. oxysporum* con la finalidad de tener productos orgánicos alternativos para el control de enfermedades, en donde se determinó que los mejores extractos fueron los de *Mimosa ursina* Mart. y *Ocimum micranthum* Willd.

En el capítulo tres se presentan los servicios solicitados por la empresa que fueron; Identificación de plantas arvenses y usos potenciales, implementación de SOP (standard operating procedure) de muestreo de suelos y muestreo foliar.



**1 CAPÍTULO I  
DIAGNÓSTICO  
ALDEA EL PINALITO SAN PEDRO PÍNULA, JALAPA**

## 1.1 PRESENTACIÓN

La aldea “El Pinalito”, se encuentra ubicada en el municipio de San Pedro Pínula Jalapa, ésta se caracteriza por su ganadería y productividad agrícola. Dentro del contexto se conoce que esta siendo afectada por muchos factores como el incremento anual de la población en 3,1 % (Profuturo, 2010), provocando que el uso de la tierra este enfocado a viviendas reduciendo el espacio de las tierras cultivadas, dónde el 48,19 % de familias cultivan en terrenos arrendados. También se puede mencionar los drásticos cambios en el clima, especialmente las prolongadas canículas, como la del 2013 con un impacto principalmente en áreas del corredor seco (Oxfam, 2013), produciéndose pérdidas significativas para los pequeños agricultores, debido a que el 52 % dependen de las lluvias para sus sembradíos.

La población pinalteca también tiene limitado acceso de insumos para la producción, la población general de San Pedro pínula tiene una incidencia de pobreza extrema de 47,3 % (CIEN, 2011) y algunas secciones carecen de alumbrado eléctrico según indican algunos pobladores.

En el presente diagnóstico se da a conocer un panorama general de la situación agrícola de los habitantes de la aldea “el Pinalito”, dónde alrededor de 72 % de las familias se dedican a la agricultura de subsistencia de las cuales el 93 % de los cultivos son manejados por el jefe de familia y el siete por ciento por mujeres que asumen este papel es debido a que son mujeres viudas y , que marca un rol específico entre hombres y mujeres, siendo ellos los que proveen alimentos y ellas las amas de casa.

Según indican los resultados del diagnóstico la producción que obtienen los agricultores de los principales cultivos es: 2741.53 kg/ha para maíz (*Zea mays* L.), 1910.41 kg/ha frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), 656.49 de maíz y 285.71 de frijol en asocio. También cultivan a una menor escala hortalizas como rábano (*Raphanus sativus* L.), chipilín (*Crotalaria longirostrata* Hook y Arnott), bledo (*Amaranthus spp.*), cilantro (*Coriandrum sativus* L.), hierba buena (*Mentha spicata* L.), entre otras.

## 1.2 MARCO REFERENCIAL

La aldea El Pinalito, está ubicada se encuentra al sur del río Jalapa, por la ruta nacional 18 al noroeste en el kilómetro 113.6 de camino a la cabecera de San Pedro Pínula en Jalapa, con coordenadas latitud 14°40'13", longitud 89°52'27", colinda al norte con los municipios de El Júcaro (El Progreso) y San Diego (Zacapa); al sur con San Manuel El Chaparrón, al oeste con el municipio de Jalapa y al este con San Luis Jilotepeque y se sitúa a orillas de la llanura de Pínula y del río que viene de la ciudad de Jalapa (Guatepymes.com).

Su extensión territorial es de 376 km<sup>2</sup> y cuenta con una población de 14,213, habitantes (PL, 2015). El clima es tropical con una temperatura media de 21.8 °C, precipitación media de 1,214 mm y se encuentra a 1,097 m s.n.m. (INE, 2012). La topografía es variada que le permite una orografía cambiante con montañas del norte, del Silencio, El Pinalón y La Cumbre; los cerros Alto, Chucunhueso, del Tobón, El Cubilete, El Gavilán, Güisiltepeque, La Botija, La Burrera, La Martina, Las Ventanas, Picacho, Piedra Colorada, Redondo y Santiago (EcuRed, s.f.).

También cabe mencionar otros datos referentes al clima como la nubosidad, que durante la mayor parte del año en el cielo es despejada, la duración del día en San Pedro Pinula varía durante el año, pero reportes indican que el día más corto es el 21 de diciembre, con 11 horas y 16 minutos de luz natural; el día más largo es el 21 de junio, con 13 horas y 0 minutos de luz natural (Weather Spark, 2019).

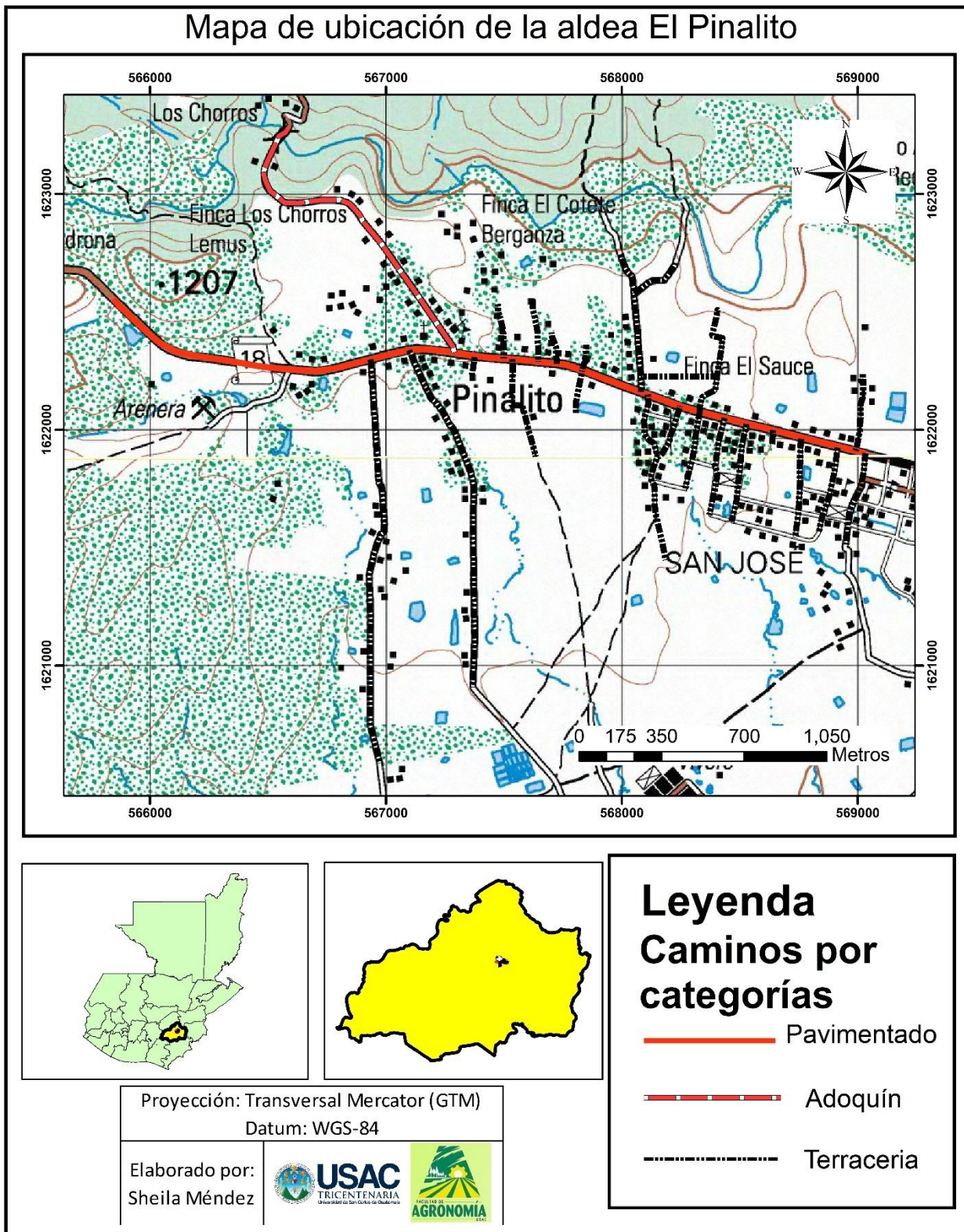


Figura 1. Mapa de ubicación de la aldea El Pinalito en San Pedro Pínula Jalapa.

### **1.3 OBJETIVOS**

#### **1.3.1 General**

Conocer la situación actual agrícola de la aldea El Pinalito, San Pedro Pínula Jalapa.

#### **1.3.2 Específicos**

1. Conocer el porcentaje de habitantes que se dediquen a actividades agrícolas.
2. Determinar el rendimiento medio de frijol y maíz.
3. Conocer las principales especies hortícolas o frutales que cultivan los pobladores de la aldea.
4. Determinar el tipo de riego utilizados para sus cultivos.
5. Conocer los principales problemas que tengan los habitantes en cuanto a la producción de los cultivos en la aldea.

## 1.4 METODOLOGÍA PARA EL CUMPLIMIENTO DE TODOS LOS OBJETIVOS PROPUESTOS EN ESTE CAPÍTULO

### 1.4.1 Diseño muestral y levantamiento de la encuesta:

- a) Se realizó la búsqueda de información y obtención de datos sobre la población de la aldea El Pinalito y relaciones entre sus miembros, acudiendo en primera instancia a la municipalidad de San Pedro Pínula y COCODE de la aldea, las cuales no contaban con registros agrícolas.
- b) Se acudió a información del censo poblacional y agrícola del 2001 y 2012 respectivamente, para la obtención de datos disponibles sobre varianzas y valores específicos de la población de la aldea.
- c) Se hizo un recorrido dentro de la aldea el El Pinalito, para tener un panorama amplio de la situación agrícola en general, en el que se pudo determinar los puntos estratégicos que según pobladores del área delimitan la aldea el Pinalito, los cuales no coincidían con el croquis.
- d) Se utilizó un método participativo que consistió en la realización de entrevistas utilizando una boleta de tipo semiabierta, a una muestra representativa de 125 familias (vea anexo 1), para ello se hizo un muestreo aleatorio simple, haciendo una delimitación cartográfica, con una precisión del 15% debido a la limitación de recursos humanos para la realización de las encuestas a los pobladores.
- e) Según el tamaño de la muestra establecida esta actividad se inició con la impresión de cuestionarios, por lo que se llevó a cabo el llenado de los cuestionarios<sup>1</sup>, pasando una boleta preliminar para descartar familiar que no se dedicaban a la producción agrícola.

---

<sup>1</sup> Para esta actividad era necesario empezar llenando los cuestionarios con una muestra piloto, para correcciones posteriores, lo cual no fue posible por la carencia de personal y el límite de tiempo. <sup>2</sup> Este representa el error tipo I.

f) A la boleta anterior se le llamó boleta de control de la no respuesta, y del número de visitas que hice como encuestadora, hasta que se logro la aplicación del cuestionario en cada una de las familias de la muestra seleccionada en la aldea.

#### 1.4.2 Elementos determinantes para el tamaño de muestra

- a) El parámetro establecido a estimar fue la para un total y la media tomando como tamaño de muestra el valor más alto que se calculó.
- b) La variabilidad se refirió a la heterogeneidad y dispersión que presentaron los datos. Esta se obtuvo de estudios un estudio preliminar que realizó el censo nacional del 2001.
- c) El tamaño de la población se obtuvo del censo nacional del 2001, presentándose como una población homogénea de 312 habitantes en ese entonces.
- d) La confianza  $(1-\alpha^2)$  representa la probabilidad, que en este caso fue de 0.90 (90%) de confianza.
- e) También se realizaron los ajustes por pérdidas en el seguimiento, se deben prever las pérdidas de seguimiento (no respuesta, perdidas, entre otras razones) durante el estudio para garantizar que el tamaño al final del estudio no sea menor al inicialmente requerido. Si  $n$  representa el tamaño de muestra estimado sin ajuste,  $n(a)$  representa el tamaño de muestra ajustado por pérdidas en el seguimiento y  $X$  es la proporción de pérdidas a través del tiempo del estudio, tendremos:

$$n(a) = \frac{n}{(1 - X)^2}$$

Fuente: Metodología para la elaboración de encuestas.

Figura 2 Ecuación para el ajuste de pérdidas en el seguimiento.



### **1.4.3 Procesamiento de los datos:**

- a) Se procedió a señalar y anotar el código numérico la respuesta, manteniendo jerarquía de colores establecida de forma manual.
- b) Las respuestas no previstas se anotaron en forma manual tomando en cuenta, sí el impacto era grande y respondía a los objetivos se procesó, en caso contrario se omitió.
- c) Se procedió al procesamiento electrónico de los cuestionarios.

## **1.5 RESULTADOS**

Se logró abarcar 125 viviendas de la cuales 117 estaban habitadas y 8 no lo estaban, obteniendo la indisposición de dos familias las cuales se negaron a participar y no se tomaron en cuenta en este proceso.

### **1.5.1 Para el cumplimiento del primer objetivo se presenta la situación de la producción agrícola**

Se encontró que el 72 % de los entrevistados son productores agrícolas y el 28 % se dedican a otras actividades como ganadería, trabajo con el estado, negocios propios entre otros.

### 1.5.2 Características de los productores:

Se determinó que de los productores agrícolas del área el 97.61 % son personas que trabajan de forma individual, y el resto trabaja a medias<sup>2</sup>. De los cuales solo el 6 % pertenecen y participan activamente en organizaciones propias de la aldea como el Consejo comunitario de desarrollo (Cocode), al proyecto de agua de riego El Pinalito observándose poca participación de los habitantes en estas organizaciones, debido a cuestiones políticas y partidistas.

### 1.5.3 Sexo y alfabetismo de productores (as)

Se encontró que el 74 % de las personas entrevistadas saben leer y escribir, el 5 % solo leer y el 22 % no sabe leer ni escribir (cuadro 1 y figura 2). También que el 93 % de los productores son hombres y el 7 % mujeres para el caso de las mujeres se observó que su condición es de madres solteras o viudas.

Cuadro 1. Porcentaje de alfabetismo y analfabetismo.

Alfabetismo y analfabetismo	Frecuencia	Porcentaje
Leer y no escribir	4	5
No leen ni escriben	19	22
Leen y escriben	64	74
Total	87	100

<sup>2</sup> Trabajar a medias: los pobladores lo definen como la condición en la cual trabajan dos partes, donde una persona pone el terreno e insumos para la producción y la otra la mano de obra, al final se reparten la producción (50% cada uno).

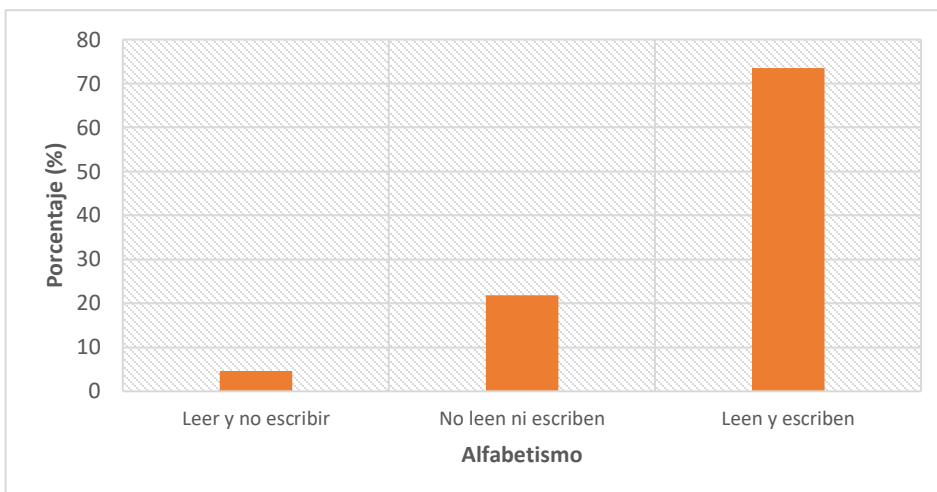


Figura 2. Porcentaje de alfabetismo en productores agrícolas.

#### 1.5.4 Condición del terreno cultivado por los productores agrícolas

Se encontró que el 52.81 % de productores trabajan en terrenos propios y el 48.19 % lo hacen en terrenos arrendados, lo cual evidencia que si existe gran cantidad de agricultores de infrasubsistencia que son parte del 96 % de lo reportado por el ICTA (2012). Los cuales se caracterizan por no tener tierra para cultivar contribuyendo a la inseguridad alimentaria debido a la inequitativa distribución de los recursos, algunas personas indicaban que tenían que dar parte o incluso la mitad de su producción como pago del arrendamiento de la tierra.

**1.5.5 Para el cumplimiento del objetivo dos y tres presenta el área de tierra sembrada, tenencia y principales cultivos en la zona**

Cuadro 2. Producción de maíz y frijol.

Especie	Nombre científico	Total área sembrada (ha)	Promedio del área sembrada (ha)	Producción kg/ha	Frecuencia del cultivar
Maíz	<i>Zea mays</i> L.	14.01	0.49	706.70	41
Frijol	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	2.05	0.14	1910.41	20
Maíz y frijol	<i>Zea mays</i> L. y <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	14.26	0.58	656.36 y 288.18	35

Cuadro 3. Producción media de hortalizas.

Especie	Nombre científico	Total área (ha)	Promedio del área (ha)	Producción manos/ha	Frecuencia del cultivar
Hierba mora	<i>Solanum nigrum</i>	0.09	0.004	73766.06	21
Chipilín	<i>Crotalaria longirostrata</i> Hook y Arnott	0.13	0.007	35801.59	20
Hierba buena	<i>Mentha spicata</i> L.	0.05	0.007	24324.16	8
Mostaza	<i>Sinapsis alba</i>	0.02	0.003	24087.30	6
Cilantro	<i>Coriandrum sativum</i>	0.07	0.003	23050.14	24
Acelga	<i>Beta vulgaris</i> var. Cicla	0.02	0.005	21939.48	4
Bledo	<i>Amarathus</i> spp.	0.01	0.002	8571.43	5
Apio	<i>Apium graveolens</i>	0.01	0.014	6944.44	1

Cuadro 4. Producción de hortalizas vendidas por docenas.

<b>Especie</b>	<b>Nombre científico</b>	<b>Total área (ha)</b>	<b>Promedio del área (ha)</b>	<b>Producción media docenas/ha</b>	<b>Frecuencia del cultivar</b>
Ayote	<i>Cucurbita argyrosperma</i>	0.010	0.014	1180.55556	1
Brocolí	<i>Brassica oleracea var. Italica</i>	0.020	0.029	86.8055556	1
Repollo	<i>Brassica oleracea var. Capitata</i>	0.020	0.029	138.888889	1
Lechuga	<i>Lactuca sativa</i>	0.004	0.003	30952.381	2
Cebollín	<i>Allium schoenoprasum</i>	0.006	0.003	107142.857	3
Rábano	<i>Raphanus sativus L.</i>	0.137	0.008	59360.6914	26

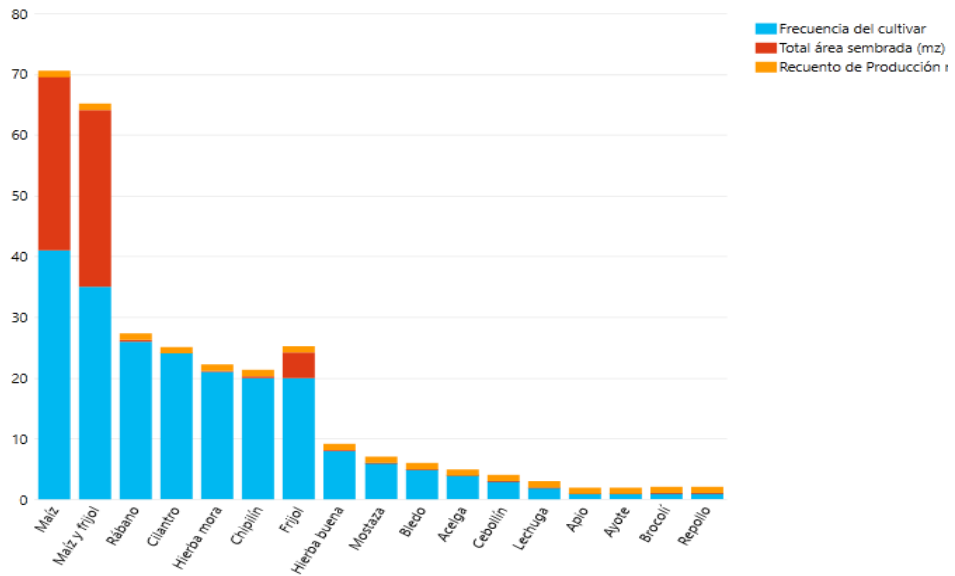


Figura 3. Total área sembrada por cultivo, frecuencia de siembra del cultivar y producción media.

En la figura 7 se observar el área media sembrada, para granos básicos como maíz y frijol, obteniendo el maíz un promedio de 0.49 ha y 0.58 ha para asocio entre frijol y maíz.

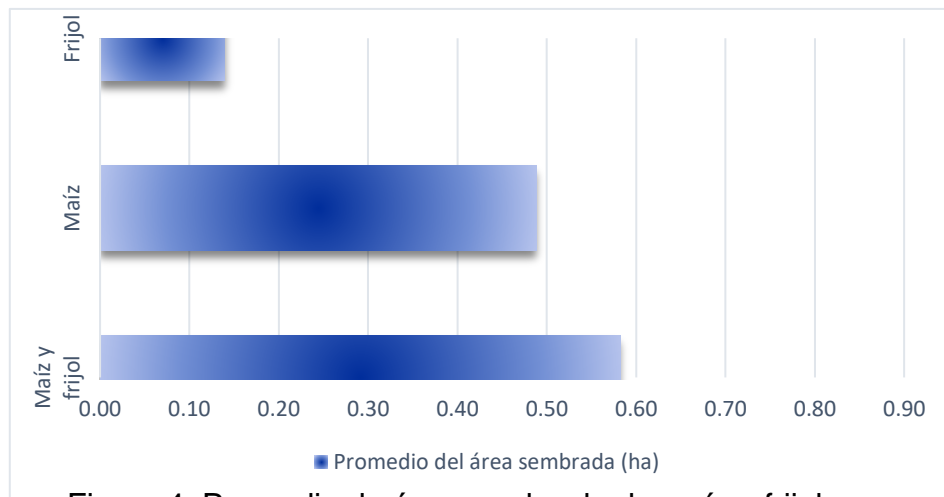


Figura 4. Promedio de área sembrada de maíz y frijol.

Para el caso de la figura 8 se observa que el mayor promedio de área sembrada es para el brócoli y repollo.

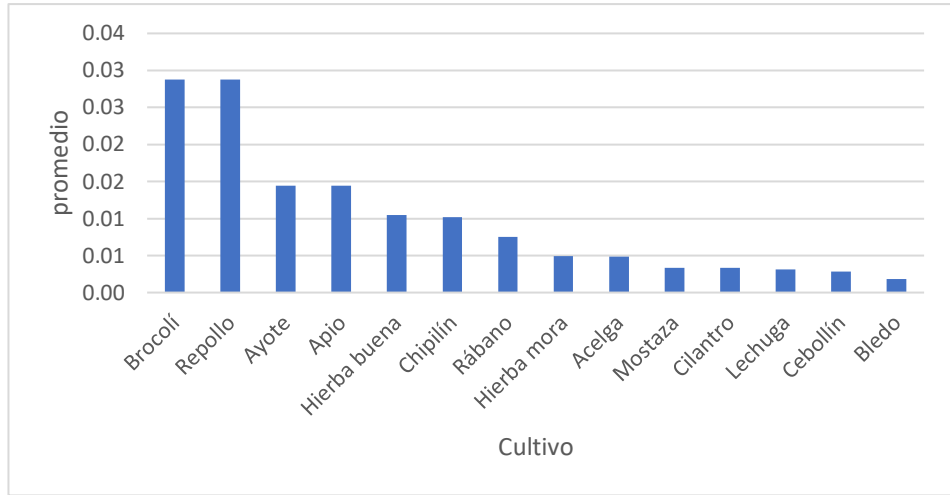


Figura 5. Promedio de área sembrada hortalizas (ha).

En la figura 9 se presentan la producción promedio de maíz, frijol, asocio de ambos, observando el rendimiento promedio más alto lo tiene el maíz con 706.7 kg/ha, seguido por el frijol de 1910.40 kg/ha, el asocio de maíz y frijol con 656.36 kg/ha y 288.18 kg/ha, para el caso del cultivo de maíz este se encuentra por debajo de la media nacional que es de 1586.36 kg/ha (MAGA, 2018), el de frijol se encuentra por arriba de la media nacional, y el que se encuentra relativamente bajo es de asocio, que en su mayoría los productores que siembran en asocio, no tienen agua de riego, por lo cual se les dificulta en gran manera obtener rendimientos altos.

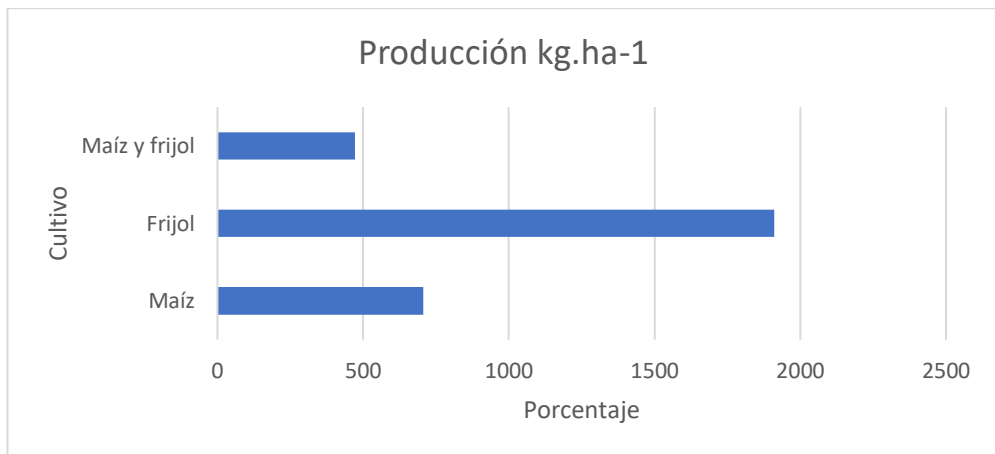


Figura 6. Rendimiento medio de frijol y maíz en kg/ha.

En la figura 10 se puede observar la producción media de hortalizas, la mayor producción se observa en la hierba mora con 73766.06 manos, seguido por chipilín 35801.59, siendo la acelga la que menos producción presente con 24324.16 manos por ha.

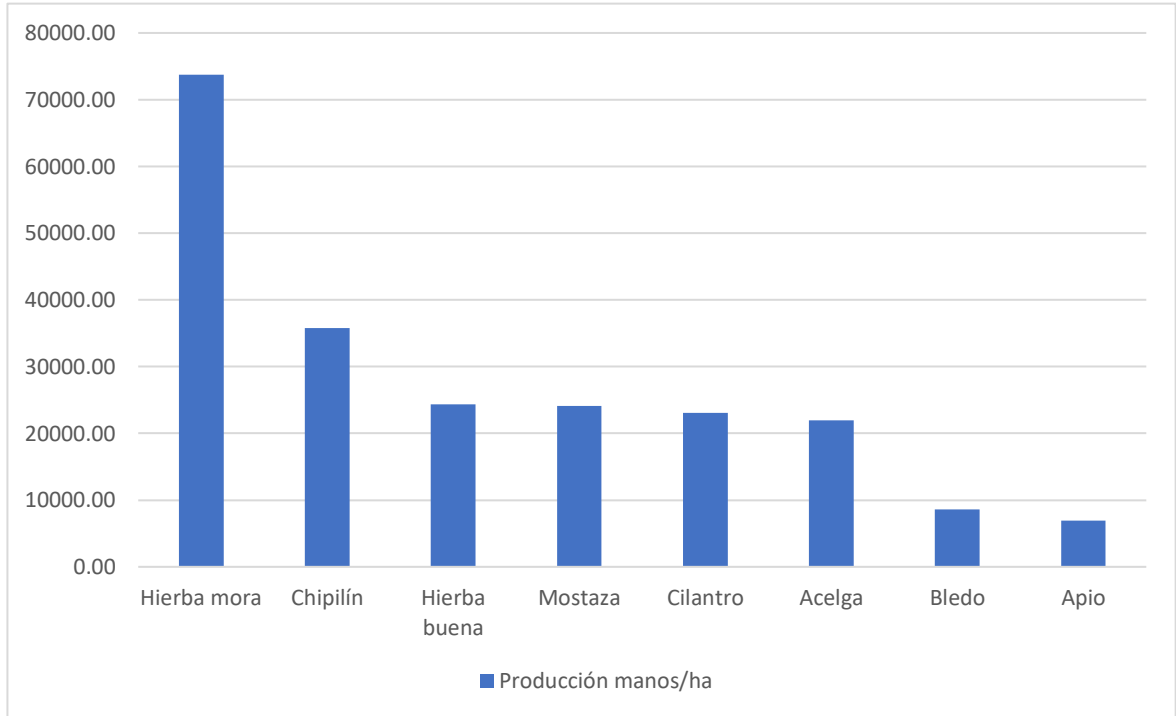


Figura 7. Producción de hortalizas de hoja en manos/ha.

En la figura 11 se puede observar la producción media más alta es la de ayote teniendo 1686.5 docenas/ha, seguido por repollo con 198.41 docenas/ha y brócoli con el más bajo que fue de 124 docenas/ha.

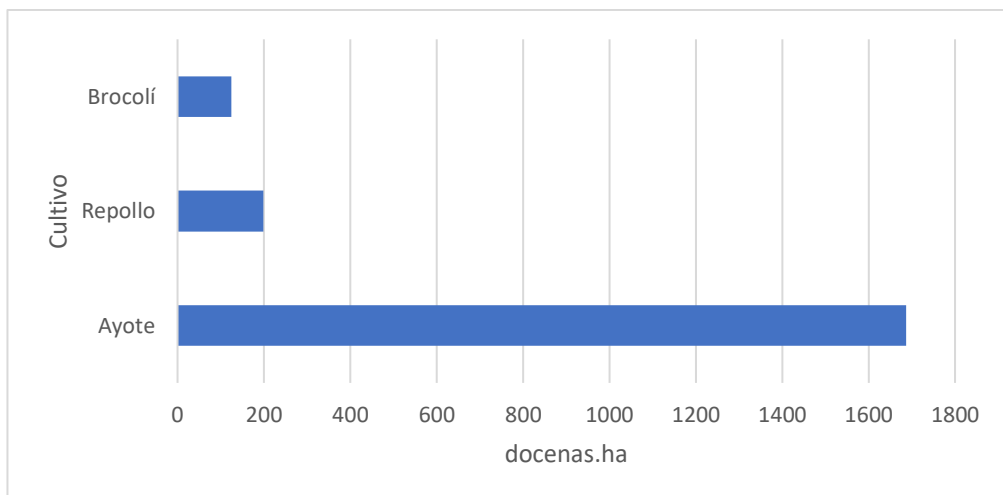


Figura 8. Producción media de brassicas por ha.



### 1.5.6 Para el cumplimiento del objetivo cuatro se presentan aspectos relacionados con el riego y fuentes de agua

Para la aldea existe una fuente de agua importante proveniente del proyecto de riego llamado El Pinalito, se deriva de un dique ubicado en la montaña llamada Guayaquil, constituido por una parte del Rio Jalapa y nacimientos cercanos a este. Según el estudio se reporta que el 65% de los productores cuentan con agua para riego, pero solo el 48% de ellos indica que obtiene el agua de dicho proyecto y el 35% depende del agua de lluvia.

Por la escasez de agua en los ciclos de producción la mayoría de productores tiene que almacenar agua para poder regar sus cultivos, las principales formas de almacenamiento de agua es el 39 % utiliza pozos, el 33 % agua de lluvia, 18 % charcas y el 5 % tomas cuadro 5.

Cuadro 5. Fuentes de almacenamiento de agua para riego.

<b>Forma de almacenamiento del agua</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Porcentaje</b>
Pozo	35	39.8
Lluvia	29	33.0
Charca	16	18.2
Toma	5	5.7
Otro	3	3.4
<b>Total</b>	<b>88</b>	<b>100</b>

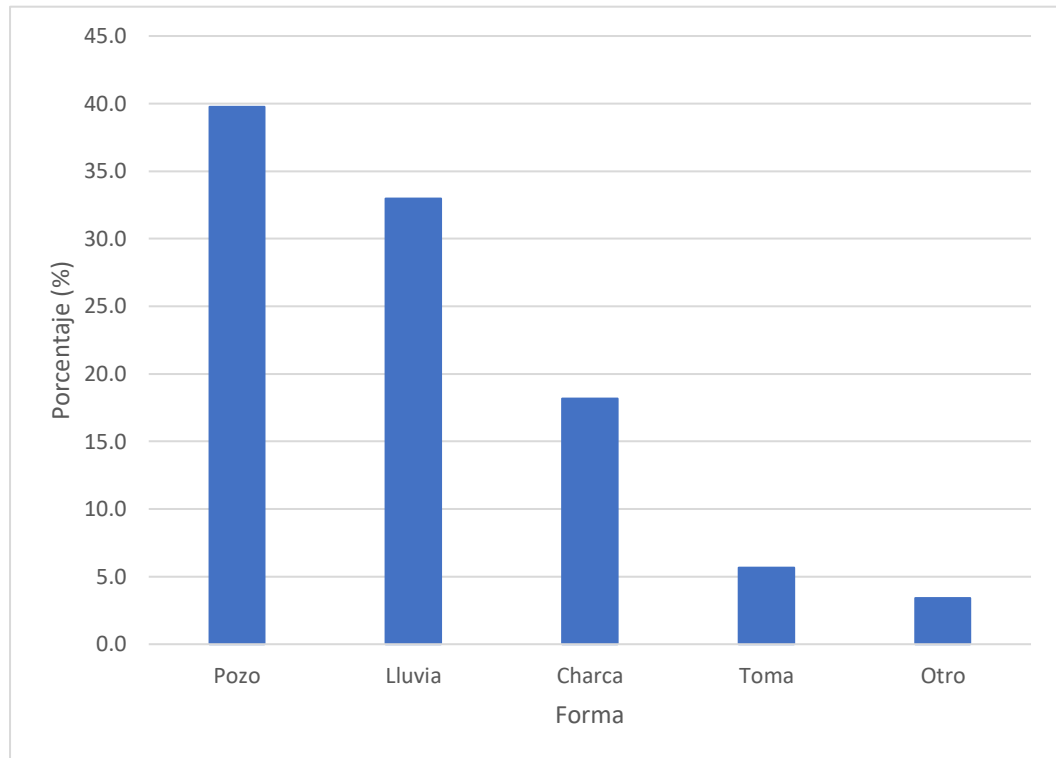


Figura 9. Fuentes de almacenamiento de agua para riego.

El tipo de riego que utilizan los agricultores es con regadera el 30 %, gravedad 21 %, manguera 10 %, aspersión 8 %, y goteo 3.3%.

### 1.5.7 Nutrición de los cultivos y tipos de fertilizantes

El 95.4 % de los agricultores utilizan fertilizantes para la nutrición de sus cultivos y el 4.6 % no utiliza nada, lo cual indica que la minoría siembra para autoconsumo.

De los agricultores que fertilizan el 77 % utiliza fertilizantes inorgánicos, el 18 % una combinación de orgánico con inorgánico y el 5 % utilizan orgánicos.

Los fertilizantes inorgánicos más utilizados por los agricultores son; urea en 38.58 % y 20-20-0 en 32.28 % y los fertilizantes orgánicos más utilizado es la broza u hojarasca y residuos de cosechas el 69,6%, este tipo de fertilizantes es el más utilizado por la accesibilidad, en una minoría utilizan gallinaza, bovinaza y tierra de zompoperas (cuadro 6 y figura 10).

Cuadro 6. Porcentajes de utilización de fertilizantes inorgánicos y orgánicos.

Fertilizante inorgánico		Fertilizante orgánico	
Tipo	Porcentaje	Tipo	Porcentaje
Urea	38.58	Broza	69.6
20-20-0	32.28	Estiercol	13.0
Triple 15	24.41	Gallinaza	13.0
Sulfato	4.72	Zompopo	4.3

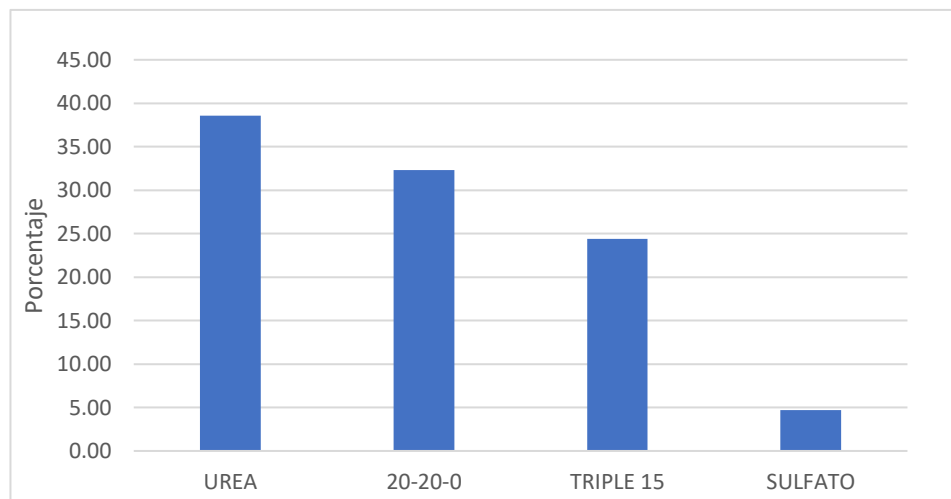


Figura 10. Tipo de fertilizante utilizado.

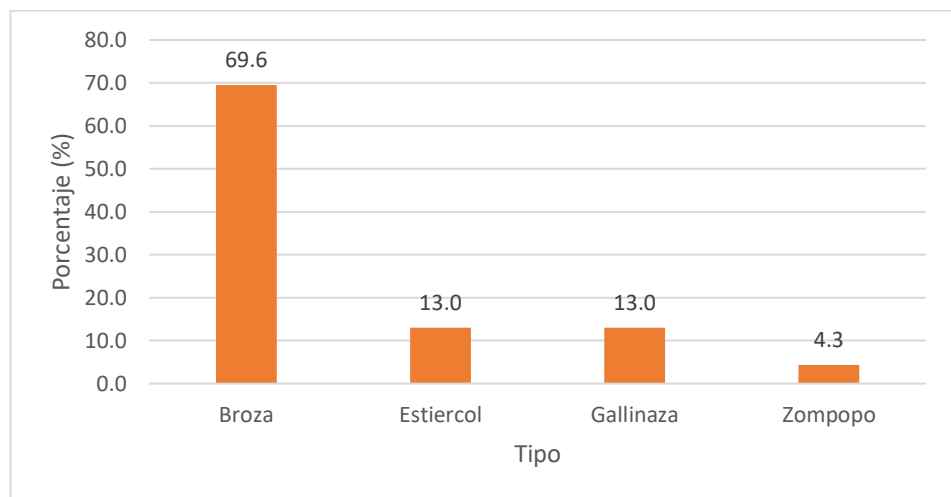


Figura 11. Tipo de fertilizantes orgánicos utilizados.

### 1.5.8 Plagas y enfermedades

Las plagas más reportadas por los productores para el cultivo de maíz es el gusano cogollero (*Spodoptera* spp.), nochero (*Agrotis* spp), gallina ciega (*Phyllophaga* spp.), pero la plaga que más causa daño es el gusano cogollero. Algunos no reportaron ninguna plaga debido a que la persona no tenía conocimiento de estas.

Para el cultivo de frijol las plagas que causan daños económicos son; tortuguilla (*Diabrotica* spp.) a .67% de los agricultores, pulgón (*Aphis* spp.) a 5.75% y gallina ciega (*Phyllophaga* spp.) a 2.30%.

Para hortalizas las plagas reportadas por los agricultores son mosca blanca (*Bemisia tabacci*) afectando a 21% de los agricultores, pulgón a 3% y otras plagas que ellos no conocían.

Las enfermedades para maíz reportadas fueron tizón (*Helmithosporium maydis*), roya (*Puccinia sorghi*), para el caso de maíz.

Cuadro 7. Enfermedades que se presentan con mayor frecuencia en el cultivo de maíz.

<b>Enfermedades Maíz</b>	<b>Nombre científico</b>	<b>Porcentaje</b>
Roya	<i>Puccinia sorghi</i>	28.7
Tizon	<i>Helmithosporium maydis</i>	27.6
No reportadas		21.8
Mancha de asfalto	<i>Phyllacora maydis</i>	18.4
Carbòn	<i>Ustilago maydis</i>	3.4

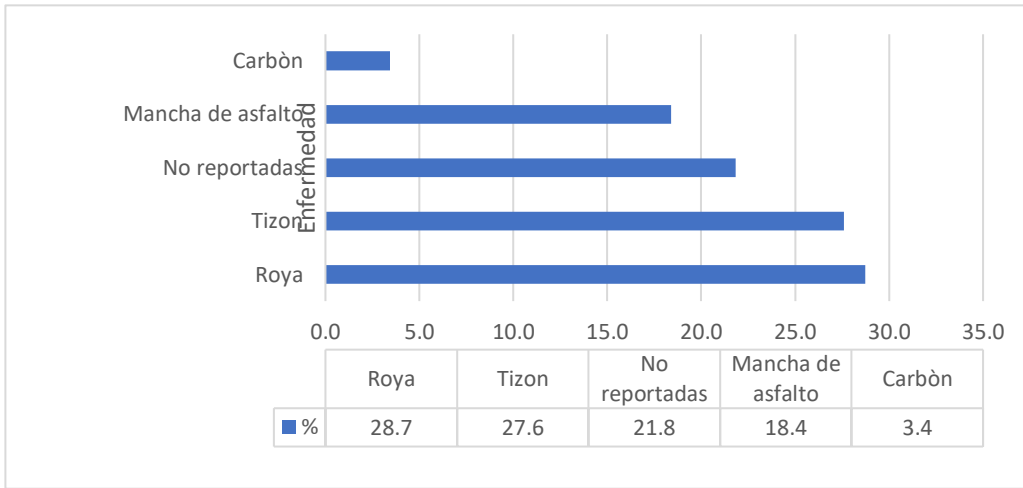


Figura 12. Enfermedades presentes con mayor frecuencia en el cultivo de maíz.

Las enfermedades reportadas por los agricultores en el cultivo de frijol fueron roya (*Puccinia spp.*) con el 23 %, virus (virus del mosaico común) 5 %, y roya blanca (*Albugo candida*) en 6 % y el 72.4% dijeron que no conocían las enfermedades que les afectaba.

**1.5.9 Insecticidas, fungicidas y frecuencias de aplicación utilizadas por los productores**

El 100% de los productores de la aldea utilizan productos químicos para el control de plagas y enfermedades, las frecuencias de aplicación son muy cercanas, e incluso utilizan productos que están prohibidos, en el cuadro 8, 9 y 10 se presentan los resultados de los datos obtenidos en campo.

Cuadro 8. Insecticidas utilizados para el control de plagas por los agricultores.

Insecticida	Grupo químico	Porcentaje
<b>Karate</b>	Piretroide	57.14
<b>Anaconda</b>	Organofosforado-piretroide	16.07
<b>Malathion</b>	Organofosfatos	10.71
<b>No aplica nada</b>	-----	10.71
<b>Parafos</b>	Organofosforado	5.36
<b>Kun Fu</b>	Lambdacyhalothrina	3.57

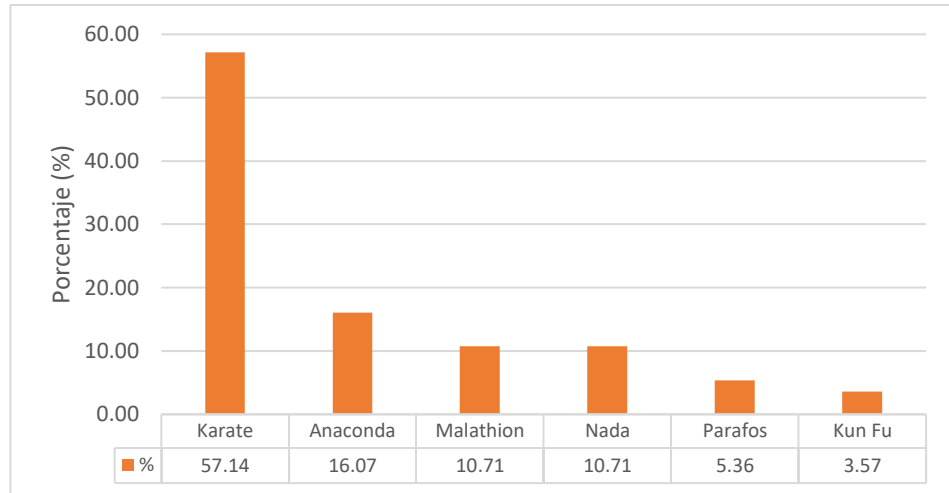


Figura 13. Fungicidas utilizados por los agricultores.

Cuadro 9. Fungicidas utilizados en la aldea El Pinalito.

Fungicidas	Grupo químico	Porcentaje
<b>No reportados</b>	-	36.21
<b>Antracol</b>	Ditiocarbamato	32.76
<b>Mancozeb</b>	Ditiocarbamato	15.52
<b>Amistar</b>	Metoxicrilatos	10.34
<b>Benomil</b>	Benzimidazoles	3.45
<b>Manzate</b>	Ditiocarbamato	1.72

El 50% de los agricultores hacen aplicaciones de productos químicos cada 8 días, el 33% lo hace a cada 5 días, el 17% aplica a cada 15 días.

### 1.5.10 Ganadería

Esta se evaluó a grandes rasgos debido a que San Pedro Pínula, Jalapa se reconoce por la ganadería y productos derivados de ella. Se determinó que el 18 % de los productores agrícolas tienen ganado, teniendo una carga animal media de 3 cabezas/ha. Los productores indicaron que la producción de leche es de aproximadamente 5.2 L/cabeza por día, dónde el 77 % de ellos la utiliza para consumo y el 21.4 % para la venta.

### **1.5.11 Para el cumplimiento del objetivo cinco se presentan los principales aspectos y problemas generales que presentaron los habitantes en relación a la producción agrícola**

Los rendimientos de maíz (706.7 kg/ha), se encuentran por debajo de la media nacional que es de 1586.36 kg/ha (MAGA, 2018), para el caso del frijol el rendimiento medio registrado es de 1910.40 kg/ha estando por encima de la media nacional que es 941.36 kg/ha (MAGA, 2015). Para el caso del maíz los rendimientos registrados pueden ser debido a la prolongación de la época seca, la mayoría de productores que lo siembran lo hacen en terrenos rentados que están fuera de la aldea por lo que no se ven beneficiados por el proyecto de agua de riego, otro factor que contribuye a los bajos rendimientos es el mal manejo de plagas y enfermedades, según productores han tenido como principal problema el daño causado por tizón (*Helminthosporium maydis*) a lo que ellos le llaman quemazón y roya (*Puccinia sorghi*) conocida por los pobladores como pizca, y los daños por *Agrotis* y *Spodoptera*. Para frijol los rendimientos se encuentran por encima de la media nacional, esto puede ser debido a que según productores no tienen mucho problema con enfermedades y muchos de ellos tienen agua de riego donde cultivan su frijol, en cuanto el asocio entre maíz y frijol los rendimientos son relativamente bajos debido a lo mencionado.

La aldea el Pinalito es uno de los principales puntos neurálgicos de producción de hortalizas y granos básicos de subsistencia (maíz y frijol), que abastecen el mercado de este municipio y la cabecera departamental de Jalapa. Dentro de las hortalizas que se producen con más frecuencia son; rábanos, hierba mora, chipilín, cilantro, mostaza, hierba buena, acelga, e incluso repollo y brócoli.

En cuanto a las hortalizas la mayoría de productores que los cultiva tiene sus terrenos cerca del río y de las tomas de agua provenientes de dicho proyecto y se ven afectadas principalmente por plagas como la mosca blanca reportada en hierba mora (*Solanum nigrum*), que es la hortaliza que se produce más.

A pesar del proyecto de riego con que cuenta la aldea hay muchos de sus productores que no se ven beneficiados por este, el 53% de los productores dependen del agua de lluvia para poder sembrar, otro aspecto que cabe mencionar es la aplicación de fungicidas e insecticidas de los cuales está restringido su uso como tamaron o metamidofos, malathion ambos organofosforados. La frecuencia o intervalos de

aplicación que utilizan son en su mayoría cada ocho días, que es un grave problema, consecuencia de ello los productos químicos dejan controlar la plaga por la resistencia adquirida. La residualidad de los productos que en su mayoría son de categoría toxicológica de grado 3 (moderadamente tóxico).

## **1.6 CONCLUSIONES**

1. La aldea El Pinalito se caracteriza por ser productor de hortalizas para la venta, maíz y frijol para el consumo, en la actualidad el 72% de sus habitantes se dedica a la agricultura.
2. El rendimiento medio de frijol es de 1910.40 kg/ha y maíz 1586.36 kg/ha.
3. Las especies de plantas que más se cultivan son: maíz, frijol, rábano, hierba mora, chipilín, cilantro, hierba buena, mostaza, bledo, brócoli, repollo, acelga, ayote y lechuga.
4. El tipo de riego que se más utilizado en el área es por gravedad.
5. Los problemas identificados dentro del diagnóstico en cuanto a la producción de los cultivos son; las aplicaciones frecuentes de productos químicos el 50% de productores aplica cada 8 días, el poco acceso a la tierra para cultivar, dependencia de agua de lluvia para riego, utilización de productos químicos restringidos.

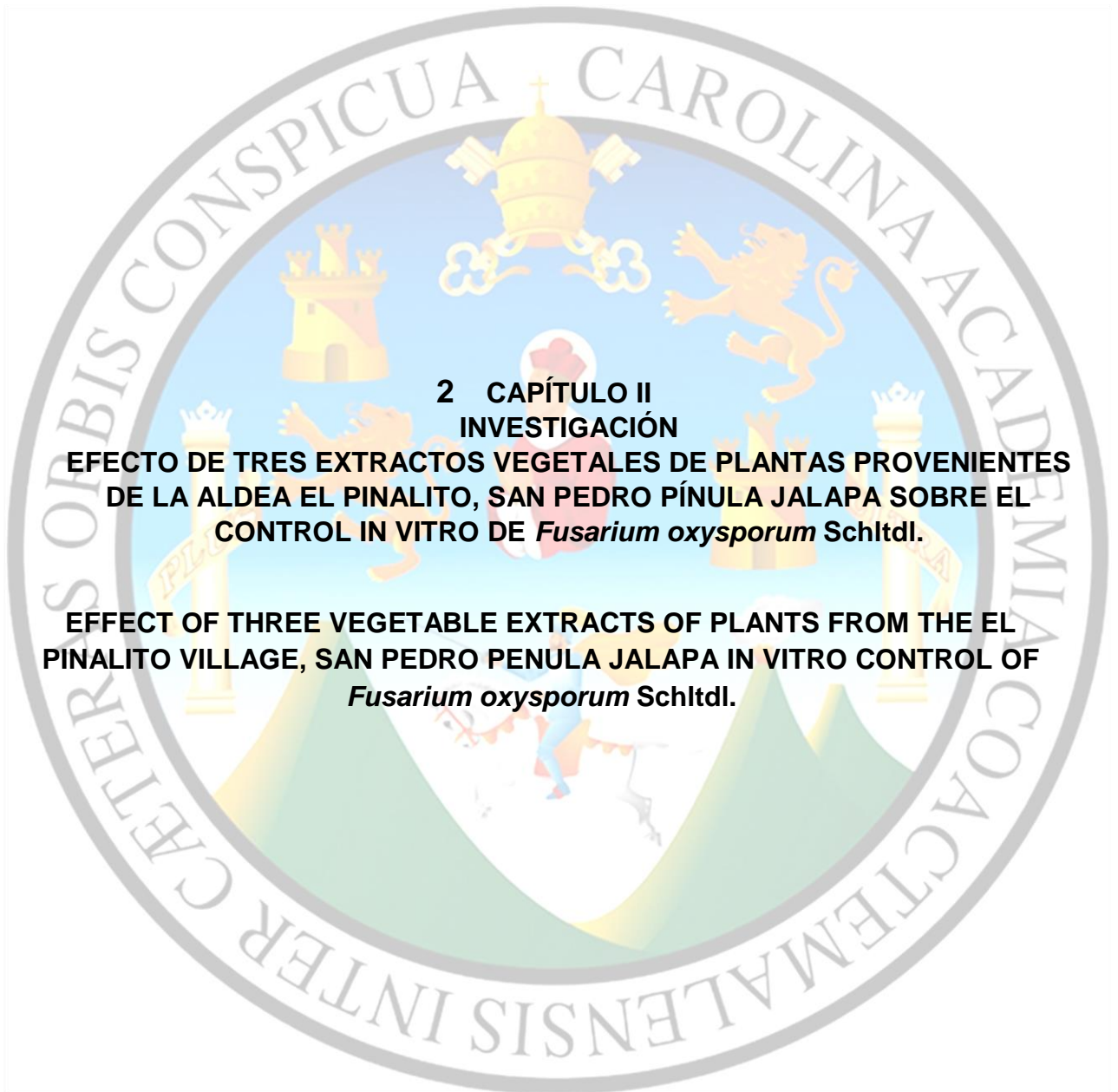
## **1.7 RECOMENDACIONES**

1. Se recomienda realizar otro diagnóstico en un periodo no mayor a cinco años para mantener actualizada la información agrícola del área y así los pobladores tengan datos certeros y un panorama de cómo se encuentra su comunidad, como también puedan acceder a proyectos que contribuyan al desarrollo sin que sobre o sub valoren la situación de los pobladores.



## 1.8 BIBLIOGRAFÍA

1. Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas, Guatemala (ICTA). (2012). *Plan estratégico 2013-2020 Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas*. Guatemala, Guatemala.
2. Guatepymes.com. (s.f.). *Descripción geográfica de la aldea El Pinalito*. Obtenido de <https://www.guatepymes.com/geodic.php?keyw=4436>  
Instituto Nacional de Estadística. (2012). Guatemala.
3. Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación, Guatemala (MAGA). (2015). *Informe situación del frijol 2015*. Obtenido de *informe situación del frijol 2015*:  
[https://www.maga.gob.gt/sitios/diplan/download/informacion\\_del\\_sector/informe\\_s\\_de\\_situacion\\_de\\_maiz\\_y\\_frijol/2017/06%20Informe%20Situaci%C3%B3n%20Del%20Frijol%20Negro%20Junio%202017.pdf](https://www.maga.gob.gt/sitios/diplan/download/informacion_del_sector/informe_s_de_situacion_de_maiz_y_frijol/2017/06%20Informe%20Situaci%C3%B3n%20Del%20Frijol%20Negro%20Junio%202017.pdf)
4. Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación, Guatemala (MAGA). (2018). *Informe de la situación de maíz*. Obtenido de:  
[https://www.maga.gob.gt/sitios/diplan/download/informacion\\_del\\_sector/informe\\_s\\_de\\_situacion\\_de\\_maiz\\_y\\_frijol/2018/08%20Informe%20Situaci%C3%B3n%20Del%20Ma%C3%ADz%20Blanco%20Agosto%202018.pdf](https://www.maga.gob.gt/sitios/diplan/download/informacion_del_sector/informe_s_de_situacion_de_maiz_y_frijol/2018/08%20Informe%20Situaci%C3%B3n%20Del%20Ma%C3%ADz%20Blanco%20Agosto%202018.pdf)
5. OXFAM. (2013). *Impacto de la pérdida de cultivos de granos básicos en la seguridad alimentaria de pequeños productores y productoras del corredor seco de Guatemala*. Obtenido de <http://www.albedrio.org/htm/documentos/OXFAM-EvaluacionRapidaCorredorSecoGuatemala2013.pdf>
6. ProFuturo. (2010). *Plan de desarrollo San Pedro Pinula, Jalapa*. Obtenido de <https://docplayer.es/62156534-N-p-consejo-municipal-dedesarrollo-municipio-de-san-pedro-pinula-guatemala-centro-americanpbx.htm>
7. Secretaría de Planificación y Programación de la Presidencia de la República de Guatemala (SEGEPLAN). (2011). *Plan de desarrollo San Pedro Pinula, Jalapa*. Obtenido de [http://cooperativaelrecuerdo.com/publicaciones/wp-content/uploads/2017/08/CM-2102-SAN\\_PEDRO\\_PINULA.pdf](http://cooperativaelrecuerdo.com/publicaciones/wp-content/uploads/2017/08/CM-2102-SAN_PEDRO_PINULA.pdf)



**2 CAPÍTULO II  
INVESTIGACIÓN**

**EFFECTO DE TRES EXTRACTOS VEGETALES DE PLANTAS PROVENIENTES  
DE LA ALDEA EL PINALITO, SAN PEDRO PÍNULA JALAPA SOBRE EL  
CONTROL IN VITRO DE *Fusarium oxysporum* Schldl.**

**EFFECT OF THREE VEGETABLE EXTRACTS OF PLANTS FROM THE EL  
PINALITO VILLAGE, SAN PEDRO PENULA JALAPA IN VITRO CONTROL OF  
*Fusarium oxysporum* Schldl.**

## 2.1 PRESENTACIÓN

La riqueza y diversidad de plantas que tiene Guatemala es un eje fundamental para la población, debido a que permite la disponibilidad de recursos, haciendo uso de ello para desarrollar alternativas de sostenibilidad en áreas de salud, industria, agrícola y otras en las que se necesite. Para el caso del sector agrícola el cual tiene que cumplir con muchos retos día a día, tener una producción óptima y mantener un equilibrio con el medio ambiente, implica desarrollar técnicas que integren metodologías eficaces que puedan ayudar a cada una de las áreas que conforman un sistema de producción agrícola como; suelo, agua, fisiología, fertilidad, control de plagas y enfermedades entre otros, y así poder cumplir con los objetivos que se tengan planteados dentro de la institución. Una de las áreas en las que más se debe hacer énfasis es el control de plagas y enfermedades, especialmente si es un cultivo extensivo que para mantener dicho equilibrio entre ambiente y cultivo (producción) se tienen que buscar alternativas que ayuden a contrarrestar estas, sin hacer uso excesivo de agroquímicos sintéticos.

Investigaciones reportan que el uso de extractos vegetales ayuda a controlar las enfermedades y plagas de los cultivos, por ende, disminuir las pérdidas de estos sin causar un impacto negativo al ambiente junto con manejo cultural, control biológico, cultivos protegidos, mejoramiento genético entre otros. El uso de extractos vegetales es una alternativa, pues las plantas producen compuestos repelentes contra plagas y enfermedades como mecanismo de defensa, que pueden ser utilizados de forma eficiente, junto con un plan de manejo integrado para tener un mejor control contra estos, y así evitar el uso indiscriminado de productos químicos y contribuir a contaminar menos el ambiente provocado por los residuos que dejan esos productos (Ocaña, 2013).

En este documento se estudiaron las especies *Mimosa ursina* Mart., *Acacia farnesiana* (L.) Willd. y *Ocimum micranthum* Willd., conocidas comúnmente en la aldea el Pinalito, San Pedro Pínula, Jalapa como: dormilona, dormilona-espinosa y albahaca de monte respectivamente, de las cuales se obtuvieron extractos etanólicos utilizados como medidas alternativas para el control in vitro de *Fusarium oxysporum* Schltdl., que es un hongo del suelo ampliamente conocido por su agresividad en cuanto afección a plantas y cultivos agrícolas. Se encontró el 94 % de inhibición para el mejor tratamiento que fue *O. micranthum* a una concentración del 0.015 g/mL y 79,67 % en *M. ursina* con misma concentración, encontrando en *A. farnesiana* porcentajes de inhibición menores a 40.

## 2.2 MARCO CONCEPTUAL

### 2.2.1 Propiedades antifúngicas de plantas superiores

Las plantas sintetizan y almacenan durante su crecimiento con la ayuda del metabolismo compuestos metabólicos que han sido encontrados en los tejidos de estas, que pueden ser divididos en dos grandes categorías basadas en sus funciones. La primera categoría comprende los metabolitos primarios que son los involucrados en los procesos fisiológicos de la planta necesarios para el desarrollo de la vida del vegetal, entre estos procesos se encuentran la fotosíntesis, respiración, metabolismo del ácido nucleico, metabolismo de proteínas, carbohidratos y lípidos. La segunda comprende los metabolitos secundarios, compuestos que se cree no son absolutamente necesarios para los procesos de la vida, aunque pueden tener funciones importantes en las interacciones de la planta con otros organismos. Entre las funciones de los metabolitos secundarios de las plantas están las siguientes: defensa química contra patógenos y herbívoros, interacciones alelopáticas, atracción para la polinización, entre otros (Neyoy, 2012).

Las formulaciones de productos vegetales utilizados han consistido de extractos acuosos, etanolitos, hexánicos, polvos (liofilización<sup>3</sup>), aceites esenciales y metabolitos secundarios antifúngicos. Se ha reportado que entre el 32 % y 51 % de control por algunas plantas probadas como cebolla (*Allium cepa* L.), ajo (*Allium sativum* Mill.), pimienta negra (*Piper nigrum* L.) apazote (*Teloxys ambrosioides* Weber), tomillo (*Thymus vulgaris* L.) etc. interactúan con los hongos y la respuesta de los patógenos varía desde la estimulación biológica hasta un total de su inhibición (Belmont, y otros, 2000).

---

<sup>3</sup> Proceso por el cual a través de congelamiento rápido de un producto (temperaturas inferiores a -50°C) se elimina el componente líquido del extracto por sublimación (Aboca, 2018).

### 2.2.2 Extractos vegetales

Las mezclas de los compuestos con propiedad antifúngica encontrados en las plantas pueden afectar a los patógenos diferencialmente, ya sea de manera individual o por las mezclas en determinadas concentraciones y proporciones. Así mismo, diversos métodos de extracción son estudiados para salvaguardar las propiedades extraídas de la mejor y más viable manera posible (Villa, y otros, 2014).

### 2.2.3 Metabolito secundario

Estos son compuestos químicos de bajo peso molecular, que se generan a partir del metabolismo secundario de las plantas, debido a que son expuestas a condiciones adversas tales como: a) el consumo por herbívoros (artrópodos y vertebrados), b) el ataque por microorganismos: virus, bacterias y hongos, c) la competencia por el espacio de suelo, la luz y los nutrientes entre las diferentes especies de plantas y d) la exposición a la luz solar u otros tipos de estrés abiótico (Sepúlveda, Porta, & Rocha, 2003).

### 2.2.4 Antecedentes relacionados con investigaciones de extractos de plantas para el control de hongos fitopatógenos

Se hace una recopilación de investigaciones realizadas con extractos de plantas y su uso potencial fungicida para el control de hongos fitopatógenos en el cual se puede mencionar:

*Ocimum basilicum* L. var. Genovese: Es una planta que se utiliza como una con potencial en uso de fungicidas debido a que tienen metabolitos como alcaloides, flavonoides y fenoles (De León, Sanabria, Rodríguez, & Ulacio, 2012).

Se ha encontrado que el extrato bruto o del aceite esencial de plantas medicinales de manjerona (*Origanum majorana* L.), alfabahaca (*Ocimum basilicum* L.), mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.) utilizado para la inhibición del crecimiento micelial y esporulación de hongos fitopatógenos de (*Rhizoctonia solani* Kühn, *Sclerotium rolfsii*

Sacc, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl, *Phytophthora sp.* y *C. graminícola* (Cess.) G. W. Wilson) en bioensayos para a inducción de fitoalexinas en sorgo y soja (Schwam, Stangarlin, & Silva, 2000).

*Acacia farnesiana*: Se ha encontrado el usos de esta planta para la inhibición en un 11 % del crecimiento micelial del hongo *Rhizoctonia solani* Kühn (Hernández, 2015), en *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Rodríguez, Ramírez, Bautista, Cruz, & Rivero, 2012).

#### 2.2.4.1 Otras plantas

Actividad antifúngica de extractos de *Solanum torvum* L. sobre *Colletotrichum musae* (Bert & Curt) Arx. (Celoto, Papa, & Sacramento, 2011; Armiñana, Sánchez, Reig, & Vicente, 1984)

*Equisetum arvense* L. Se utiliza como fungicida (control de hongos) por su alto contenido en sílice y la presencia de una saponina tóxica para los hongos llamada Equisetonina, las cuales son eficaces para el control de diversos tipos de hongos que infectan a la planta como la Roya (Santana R. , 2014).

Se ha encontrado el uso de cola de caballo para el control de roya en cebolla (*Allum cepa* L.) con una inhibición micelial de hasta del 80 %.

Actividad fúngica de los aceites esenciales de *Matricaria chamomilla* L. (Manzanilla) sobre *Fusarium sp.*, y *Altenaria sp* (Sabando, 2015).

#### 2.2.5 Descripción botánica de *Mimosa ursina* Mart.

Esta es una especie conocida como dormilona que se encuentra comúnmente en terrenos de cultivo y en potreros, Esta se distingue por presentar 1-2 pares de pinnas y mayor número de pares de folíolos en los cuales existen tricomas pluricelulares marginales y glandulares y sólo en la parte basal des mismo se ven tricomas unicelulares, los pedúnculos son más largos, los capítulos más grandes, el ápice del

estilo atenuado, no infundiliforme y el fruto con las valvas no equinadas (Martínez-Bernal, Grether, & González-Amaro, 2008).



Fuente: Sheila Méndez, 2016.

Figura 14. *Mimosa ursina* encontrada en la Finca Buenos Aires, San Pedro Pínula, Jalapa.

### 2.2.6 Taxonomía según Beltrán (s.f.)

Reino: Plantae  
 Filo: Tracheophyta  
 Subfilo: Angiospermae  
 Clase: Magnoliopsida  
 Orden: Fabales  
 Familia: Mimosaceae  
 Subfamilia: Mimosoideae  
 Tribu: Mimoseae  
 Género: *Mimosa*  
 Especia: *M. ursina* Mart.

### 2.2.7 Extractos vegetales del género *Mimosa* para el control de fitopatógenos

Las plantas del género *Mimosa*, pertenecientes a la familia mimosaceae se caracterizan por producir metabolitos secundarios como taninos, bioflavonoides, dichos compuestos causan el rompimiento de la membrana celular vaciando el contenido interno y

destruyendo la estructura reproductiva, inhibiendo el crecimiento y desarrollo de los microorganismos, éste extracto se ha utilizado para el control de *Hemileia vastatrix* Berk & Br. (Guerra & Welchez, 2013).

Investigaciones reportan que los flavonoides encontrados en los extractos son antimicrobianos el cual actúa inhibiendo el crecimiento de hongos fitopatógenos, con eficiencia de extractos vegetales y aceites esenciales en control de fitopatógenos de interés en post-cosecha (Celoto, Papa, & Sacramento, 2011).

Especies del género mimosa han reportado efectos significativos sobre bacterias fitopatógenas, especialmente con extractos de taninos de la corteza de la planta (Osorio-Hernandez, y otros, 2009).

#### **2.2.8 Descripción botánica de *Ocimum micranthum* Wild.**

Hierba aromática anual, usualmente de 50 cm de altura o menos. Tallos cuadrados, rojizos y a veces pubescentes. Las hojas son más o menos redondeadas y pequeñas, con bordes dentados. Sus flores son numerosas y blancas o lila pálido, dispuestas en racimos terminales (Biblioteca Digital de México, 2009).



Fuente: Sheila Méndez, 2016.

Figura 15. *Ocimum micranthum*, hábitat natural en San Pedro Pínula, Jalapa.



### 2.2.9 Taxonomía Academic (2010)

Reino: Plantae  
 Subreino: Traqueobionta  
 Superdivisión: Spermatophyta  
 División: Magnoliophyta  
 Clase: Magnoliopsida  
 Subclase: Asteridae  
 Orden: Lamiales  
 Familia: Lamiaceae  
 Género: *Ocimum*  
 Especie: *O. micranthum* Willd.

### 2.2.10 Extractos vegetales del género *Ocimum*

Las plantas del género *Ocimum*, pertenecientes a la familia lamiaceae, de las cuales se han reportado compuestos como: eugenol (alilbenceno), trans-cariofileno (sesquiterpeno bicíclico), germacreno-D (sesquiterpeno), beta-bisaboleno (sesquiterpeno).

Desde el punto de vista fitoquímico, las hojas y las raíces contienen alcaloides, esteroides, terpenoides, quinonas, flavonoides, saponósidos, compuestos fenólicos y taninos. Varias fuentes coinciden que su aceite contiene timol, eugenol y citral, oscilando la cantidad de eugenol entre 45 %y 70 % (Blanco, Ramos, & Vizoso, 2006). Se ha comprobado la actividad in vitro antimicótica del extracto acuoso es activo contra *S. aureus*; el aceite esencial es activo contra y hongos fitopatógenos como *Alternaria sp.*, *Penisillium digitatum* (Pers.; Fr.) Sacc., entre otros (Vásquez, 2013). Algunas especies como *O. basilicum* var. Genovese se han utilizado con potencial en uso de fungicidas debido a que tienen metabolitos como alcaloides, flavonoides y fenoles (De León, Sanabria, Rodríguez, & Ulacio, 2012).

### 2.2.11 Descripción botánica de *Acacia farnesiana* (L.) Willd.

Esta planta es conocida comúnmente como espinillo blanco, espina-dormilona o huisache en México, debido a las numerosas espinas distribuidas a lo largo de sus ramas. Es un arbusto espinoso o árbol pequeño de 1 m a 2 m de altura, hojas plumosas, alternas, frecuentemente aglomeradas en las axilas de cada par de espinas, bipinnadas,

de 2 cm a 8 cm de largo incluyendo el pecíolo, con 2 a 7 pares de folíolos primarios opuestos y 10 a 25 pares de folíolos secundarios. Ramas con espinas de 6 mm a 25 mm de longitud y flores en cabezuelas de color amarillo, originadas en las axilas de las espinas, solitarias o en grupos de 2 a 3; cáliz verde, campanulado, papiráceo de 1.8 mm de largo; corola amarillenta o verdosa, de 2.3 mm de largo (Academic, 2010).



Fuente: Sheila Méndez, 2016.

Figura 16. *A. farnesiana* en la fina Buenos Aires, San Pedro Pínula.

### 2.2.12 Taxonomía según Academic (2010)

Reino: Plantae  
 División: Magnoliophyta  
 Clase: Magnoliopsida  
 Orden: Fabales  
 Familia: Fabaceae  
 Subfamilia: Mimosoideae  
 Tribu: Acacieae  
 Género: *Acacia*  
 Especie: *A. farnesiana* (L.) Willd.

### 2.2.13 Extractos vegetales del género *Acacia* para el control de fitopatógenos

Algunas especies de este género han presentado compuestos químicos que inhiben el crecimiento de bacterias y hongos dentro de los cuales se pueden mencionar flavonoides, taninos, fenoles, alcaloides y saponinas, encontrados específicamente en

*A. farnesiana* para el control de *F. oxysporum f. sp. lycopersici* cultivado in vitro (Rodríguez, Ramírez, Bautista, Cruz, & Rivero, 2012). Se ha encontrado el uso de esta planta para la inhibición en un 11 % del crecimiento micelial del hongo *Rhizoctonia solani* Kühn (Hernández, 2015).

#### **2.2.14 Control de *Fusarium* spp. con extractos vegetales**

Para el control de *Fusarium spp.*, se ha reportado el uso de diversidad de extractos de plantas, teniendo una efectividad de hasta el 90 % de efectividad, dentro de las cuales se encuentran: extractos acuosos, por arrastre de vapor y etanólicos de ajo (*Allium sativum* L.), semilla de neem (*Azardíachta indica* L.), hierba de limón (*Cymogopogon proxims* L.), comino (*Carum carvi* L.) y clavo (*Eugenia caryophyllus* Thunb.), Actividad fúngica de los aceites esenciales de *Matricaria chamomilla* L. (Manzanilla) (Sabando, 2015), entre otros estudios (Villa, y otros, 2014).

#### **2.2.15 *Fusarium oxysporum* Schltdl.**

Es un hongo cosmopolita que existe en muchas formas patogénicas, parasitando más de 100 especies de plantas gimnospermas y angiospermas, debido a los diversos mecanismos que tiene el hongo para vencer las defensas de muchas plantas (Garcés, Orozco, Bautista, & Valencia, 2001) .

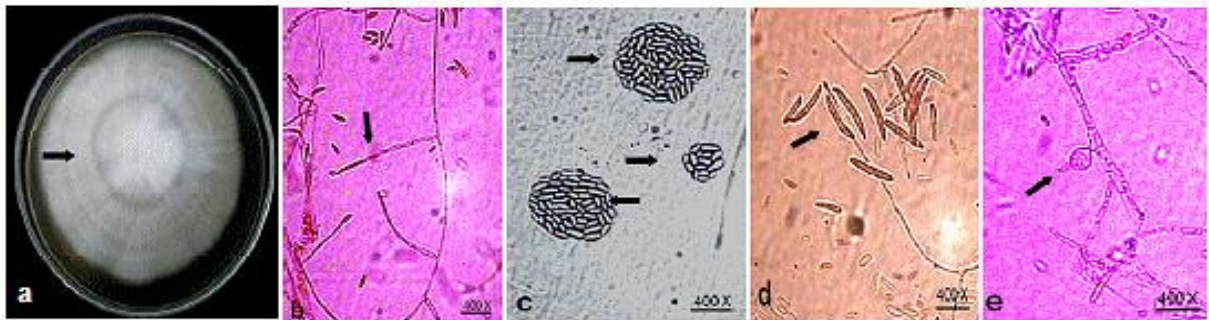
El hongo produce tres clases de esporas:

**Microconidias:** Esporas generalmente unicelulares, sin septas, hialinas, elipsoidales a cilíndricas, rectas o curvadas; se forman sobre fiálides laterales, cortas, simples o sobre conidióforos poco ramificados. Las microconidias tienen 5 µm-12 µm de largo por 2.5 µm -3.5 µm de ancho (Graces, Orozco, Bautista, & Valencia, 2001) .

**Macroconidias:** Esporas de paredes delgadas, fusiformes, largas, moderadamente curvadas en forma de hoz, con varias células y de 3 a 5 septas transversales, con la célula basal elongada y la célula apical atenuada; las macroconidias tiene un tamaño de

27  $\mu\text{m}$  a 46  $\mu\text{m}$  de largo por 3.0  $\mu\text{m}$  a 4.5  $\mu\text{m}$  de ancho (Graces, Orozco, Bautista, & Valencia, 2001) .

Clamidosporas: Esporas formadas a partir de la condensación del contenido de las hifas y de las conidias, de paredes gruesas. Se forman simples o en pares. Estas permiten que el hongo sobreviva en condiciones ambientales desfavorables y en el suelo como saprófito de vida libre en ausencia de plantas hospedantes (Graces, Orozco, Bautista, & Valencia, 2001) .



Fuente: Salazar & Diamont, 2015.

Figura 17. Características macro y microscópicas para la identificación taxonómica del aislamiento correspondiente a *F. oxysporum*. a) *F. oxysporum* en PDA, b) Fiálides laterales, c) Microconidias unicelulares o con un septo, de forma oval a elipsoidal agrupados en masa o solitarios. d) Macroconidias con 3 a 5 septos transversales, de forma falcada. e) Clamidiospora globosa y solitaria.

### 2.2.15.1 Virulencia

Las formas especiales de *F. oxysporum* se subdividen en razas fisiológicas, con base en su especificidad patogénica sobre determinadas variedades de una misma especie de planta, razón por la cual las pruebas de patogenicidad y las características de virulencia de los aislamientos del hongo son el principal criterio para diferenciar las formas especiales de *F. oxysporum* y sus razas fisiológicas (Garcés, Orozco, Bautista, & Valencia, 2001). La virulencia depende de la variabilidad genética, por lo cual se busca hacer un mejoramiento genético buscando resistencia a esta enfermedad. La enfermedad empieza a atacar cuando el hongo produce macroconidias (Ascencio-Álvarez, y otros, 2008).

### 2.2.15.2 Taxonomía de *Fusarium oxysporum* Schldl.

El taxón forma especial (f. sp) corresponde a cepas cuyas características morfológicas y de cultivo son indistinguibles, pero muestran diferentes propiedades fisiológicas en su habilidad para parasitar un hospedante específico (Garcés, Orozco, Bautista, & Valencia, 2001).

Las formas especiales de *F. oxysporum* se subdividen en razas fisiológicas, con base en su especificidad patogénica sobre determinadas variedades de una misma especie de planta, razón por la cual las pruebas de patogenicidad y las características de virulencia de los aislamientos del hongo son el principal criterio para diferenciar las formas especiales de este hongo y sus razas fisiológicas (Waller, Lenné, & Waller, 2001).

### 2.2.15.3 Taxonomía según Waller, Lenné, & Waller (2001).

Reino:Fungi  
 Phyla:Ascomycota  
 Clase:Taphrinomycetes  
 Orden:Hypocreales  
 Familia: Nectariaceae  
 Género: Fusarium  
 Especie: *F. oxysporum* Schldl.

### 2.2.15.4 Mecanismos de cambio genético y especificidad de hospedante

Los mecanismos disponibles para cambio genético en *F. oxysporum* es son poco conocidos. Este patógeno es capaz de generar diversidad por transposición por medio de retrotransposones y elementos “mariner” (Kistler, 1997). Más de 5 % del genoma de *F. oxysporum* está compuesto de transposones, lo cual genera en esta especie un mayor nivel de variación que en otras especies de *Fusarium* (Daboussi & Langin, 1994).

Otro mecanismo generador de variación genética, se reporta recombinación parasexual entre cepas de éste hongo a nivel de laboratorio, pero no se ha demostrado en la naturaleza. Según investigadores de la Universidad de Arkansas y del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (Templeton, Smith, & Tebeest, 1989), aunque los microorganismos son genéticamente variables es bastante improbable que un número

de mutaciones pueda ocurrir naturalmente para permitir a un patógeno de un hospedante parasitar otro género no relacionado (Garcés, Orozco, Bautísta, & Valencia, 2001) .

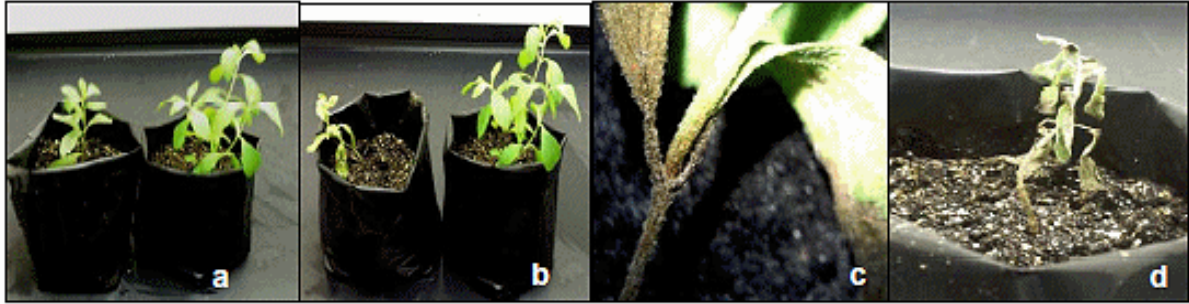
#### **2.2.15.5 Síntomas de la Enfermedad**

La enfermedad se caracteriza por la aparición unilateral de los síntomas de marchitamiento, acompañada del amarillamiento parcial de las hojas y el doblamiento de los brotes hacia el lado de la planta enferma, a causa de la interferencia en el crecimiento; en estados iniciales en las hojas puede observarse la mitad clorótica y la mitad de un color verde normal. Se observa además un enanismo de los brotes y disminución del crecimiento de la planta. Los síntomas de la enfermedad avanzan afectando la planta hacia arriba hasta causar un marchitamiento generalizado y la muerte (Salazar & Diamont, 2015).

Los síntomas también incluyen clorosis y decoloración vascular que resulta eventualmente en muerte. Los síntomas externos aparecen inicialmente en un sitio único de la planta afectada. En estados posteriores de la enfermedad, los síntomas se hacen más aparentes principalmente después de estrés hídrico. Los cortes de tallos de zonas de marchitamiento revelan oscurecimiento de los tejidos del xilema y decoloración vascular que se extiende desde el tejido radical al tallo. Se ha reportado en ensayos de invernadero los síntomas característicos comienzan a ser evidentes tres semanas después del trasplante.

Existen factores ambientales influyentes en la instalación de la enfermedad tales como: temperatura fluctuante, estrés hídrico, tipo de suelo e interacciones con otros organismos.

Un aspecto muy importante para el diagnóstico de la enfermedad que la diferencia fácilmente de otras enfermedades vasculares es una coloración blanquecina, amarillenta o marrón en los haces vasculares y deshilachamiento de los tejidos sin afectar la médula (Salazar & Diamont, 2015).



Fuente: Salazar & Diamont, 2015.

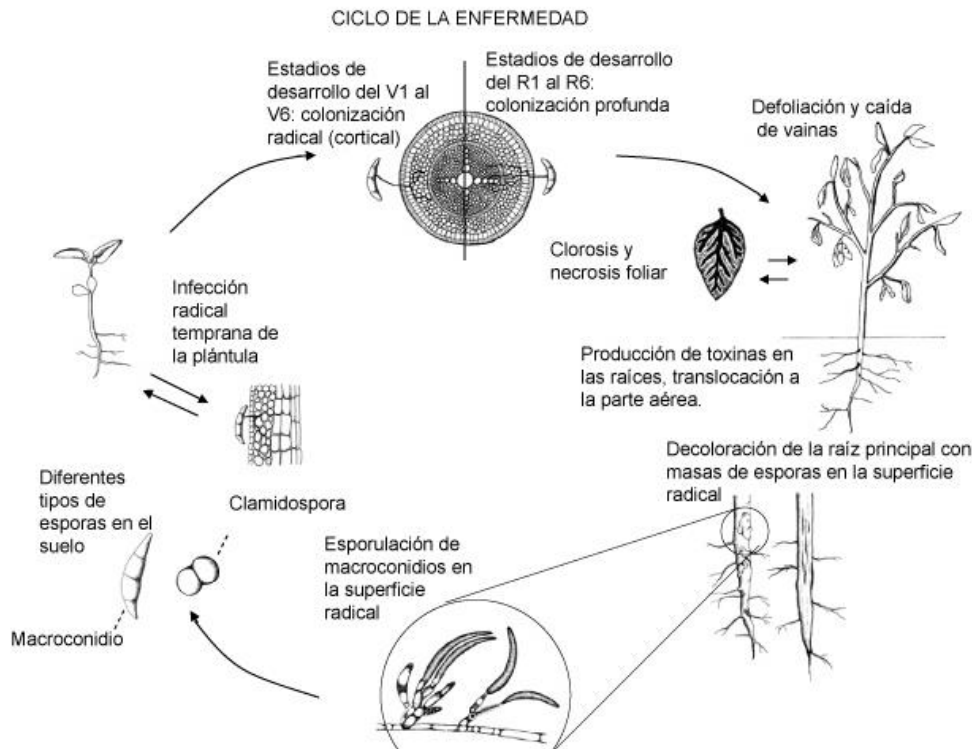
Figura 18. a) Planta sana, b) Aparición de los primeros síntomas, c) Necrosis de la base de la planta y avance de la enfermedad, d) Marchitez y necrosamiento de toda la planta

### 2.2.15.6 Ciclo de la enfermedad

La enfermedad se inicia con el crecimiento de las hifas o con la germinación de las clamidosporas en dormancia presentes en tejidos muertos del hospedante, estimulados por los exudados secretados por las raíces de las plantas de recién sembradas. Las hifas del hongo penetran directamente la epidermis de las raíces, pasan a la corteza y a la endodermis y entran a los vasos del xilema, también las hifas pueden penetrar a través de las heridas hechas en forma mecánica o por nemátodos, insectos. Sin embargo, la penetración directa a través de las raíces es el método más común de penetración del patógeno. Una vez dentro de la planta, el hongo se mueve hacia el tejido vascular por colonización intracelular a los vasos del xilema y los invade cuando están maduros (Koppert Biological Systems, 2019).

El patógeno coloniza por crecimiento del micelio o por medio de transporte pasivo de microconidias. Este último contribuye a una colonización no uniforme, lo que puede hacer que el material de propagación aparentemente sano resulte afectado (Alvarado, 2005).

La colonización del tallo es unilateral debido a que la diseminación lateral y radial del hongo parece inhibida por las paredes celulares y otras barreras laterales. La oclusión de los vasos del xilema infectado juega un papel muy importante en la resistencia de las plantas ya que se reportan variedades resistentes que tienen la capacidad de regenerar nuevos vasos del xilema, como un método para crear nuevas vías de transporte de agua para compensar vasos destruidos (Roy, 1997).



Fuente: Roy, 1997.

Figura 19. Ciclo de la enfermedad causada por *Fusarium* spp.

### 2.2.15.7 Diseminación

La principal diseminación del patógeno ocurre a través de esquejes infectados provenientes de la planta madre. Una de las dificultades para evitar este tipo de diseminación consiste en que el hongo coloniza el sistema vascular antes de la expresión de los síntomas en la planta y los esquejes obtenidos pueden contener el patógeno sin mostrar síntomas externos; además la distribución del hongo no es uniforme debido a la colonización pasiva de las microconidias en los vasos del xilema, por lo cual algunos esquejes pueden resultar sanos y otros enfermos. Otra fuente de diseminación es el suelo contaminado en donde el hongo puede sobrevivir muchos años a través de las clamidosporas. El agua puede ser un agente de diseminación del hongo, debido a su capacidad para sobrevivir en ese elemento; las esporas pueden germinar en ella y contaminar los reservorios. El aire puede transmitir el patógeno en suelo contaminado (Graces, Orozco, Bautista, & Valencia, 2001).



### **2.2.15.8 Epidemiología**

La temperatura es uno de los factores ambientales que mayor influencia tienen en el desarrollo de la enfermedad y en la expresión de los síntomas, así como la nutrición de la planta. La temperatura óptima para el desarrollo del patógeno está entre 25 °C y 30 °C, una temperatura mínima de 5 °C y una temperatura máxima de 37 °C (Agrios, 1996).

Se ha reportado que el punto de muerte en el suelo de este patógeno es de 57.5 °C a 60 °C durante 30 min. La esporulación óptima ocurre entre 20 °C y 25 °C, con 12 h de luz y 12 h de oscuridad (Agrios, 1996). El pH óptimo es de 7.7 y puede desarrollarse entre 2.2 y 9.0.

### **2.2.15.9 Inoculación en laboratorio**

Inoculación en medios de cultivo en laboratorios se caracteriza por producir colonias de rápido crecimiento, con una tasa diaria cercana a un centímetro en medio papa- dextrosa agar (PDA) a 25 °C.

La morfología de las colonias es muy variable y puede presentar dos tipos: una de tipo micelial caracterizada por la producción de abundante micelio aéreo, algodonoso, con una coloración variable, de blanco a rosado durazno, pero usualmente con un tinte púrpura o violeta más intenso en la superficie del agar y pocas microconidias (Graces, Orozco, Bautista, & Valencia, 2001) y una de tipo pionotal con la formación de poco o ningún micelio aéreo y abundantes microconidias.

### **2.2.15.10 Aislamiento, purificación e identificación de *Fusarium oxysporum***

Se puede realizar utilizando el procedimiento propuesto por Agrios (1996): Consiste en la esterilización del material de cristalería, que incluye cajas de Petri, tubos de ensayo, pipetas, etc., mediante calor seco (de 150 °C a 160 °C durante una hora o más) en un horno.

Se tiene que tener soluciones de hipoclorito de sodio al 1 %; alcohol etílico al 95 %, el cual es suave y se utiliza para sumergir los tallos durante 3 s o más.

#### **2.2.15.11 Preparación de medios de cultivo para el desarrollo de hongos**

El medio de cultivo que se puede utilizar papa-dextrosa-agar (PDA)

El Agar Papa Dextrosa está compuesto por Infusión de Papa deshidratada y Dextrosa que fomenta el crecimiento exuberante de los hongos. El agar es adicionado como agente solidificante. Se aplica una cantidad de 1.5 mL por cada 15 mL de PDA de ácido tartárico estéril (de 1 % a 10 %) para reducir el pH de este medio a  $3.5 \pm 0.1$ , y así inhibir el crecimiento bacteriano (Acumedia, 2017).

##### Fórmula por un litro

Infusión de Papa (Potato Infusion) a partir de 200 g .....	4 g*
Dextrosa (Dextrose) .....	20 g
Agar .....	15 g

\*4,0 g de extracto de papa es equivalente a 200 g de infusión de papas.

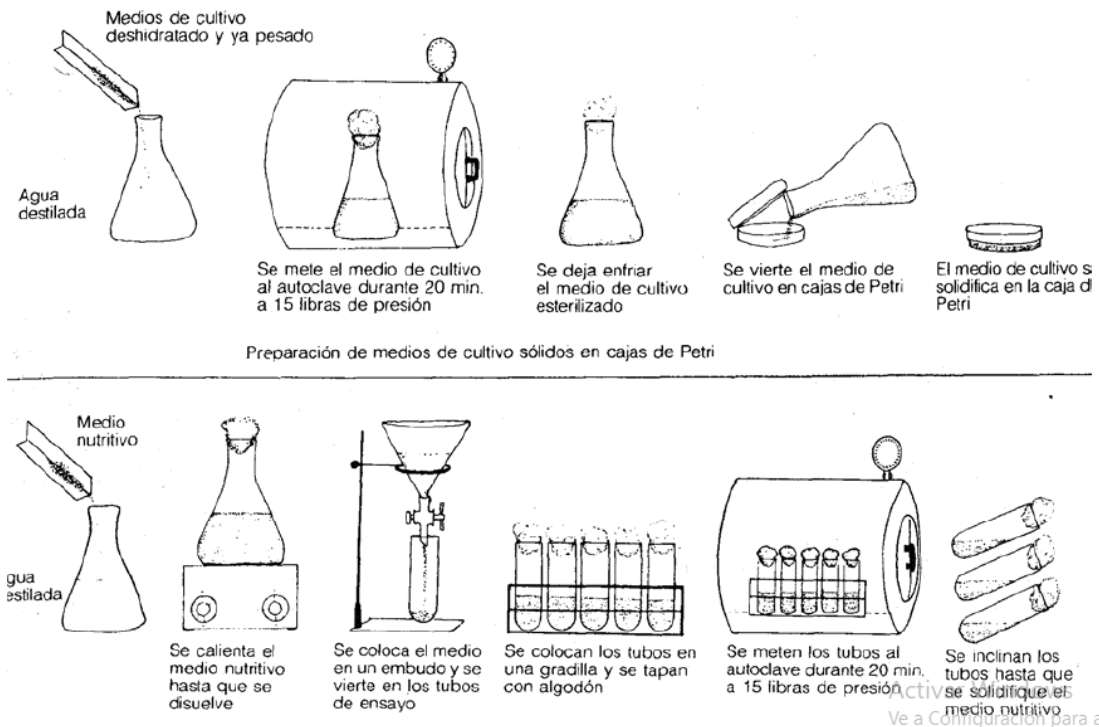
pH Final:  $5,6 \pm 0,2$  a 25 °C

Las soluciones de medios de cultivo se preparan en matraces que posteriormente se tapan y colocan en una autoclave a 120 °C y a 15 lb de presión durante 20 min (figura 7).

Los medios de cultivo esterilizados se dejan enfriar durante un cierto tiempo y posteriormente se vierten en cajas de petri previamente estériles. En caso de que al medio se le añada agar, deberá dejarse que este último se solidifique para cultivar el hongo.

El vaciado del medio de cultivo que se hace en cajas de Petri, tubos de ensayo, etc.,

se lleva a cabo lo más asépticamente posible, en una sala de cultivo apartada, libre de corrientes de aire y polvo.



Fuente: Agrios, 1996.

Figura 20. Preparación de medios de cultivo sólidos en cajas petri y tubos de ensayo.

## 2.2.16 Aislamiento del patógeno

### 2.2.16.1 Colecta del material vegetal

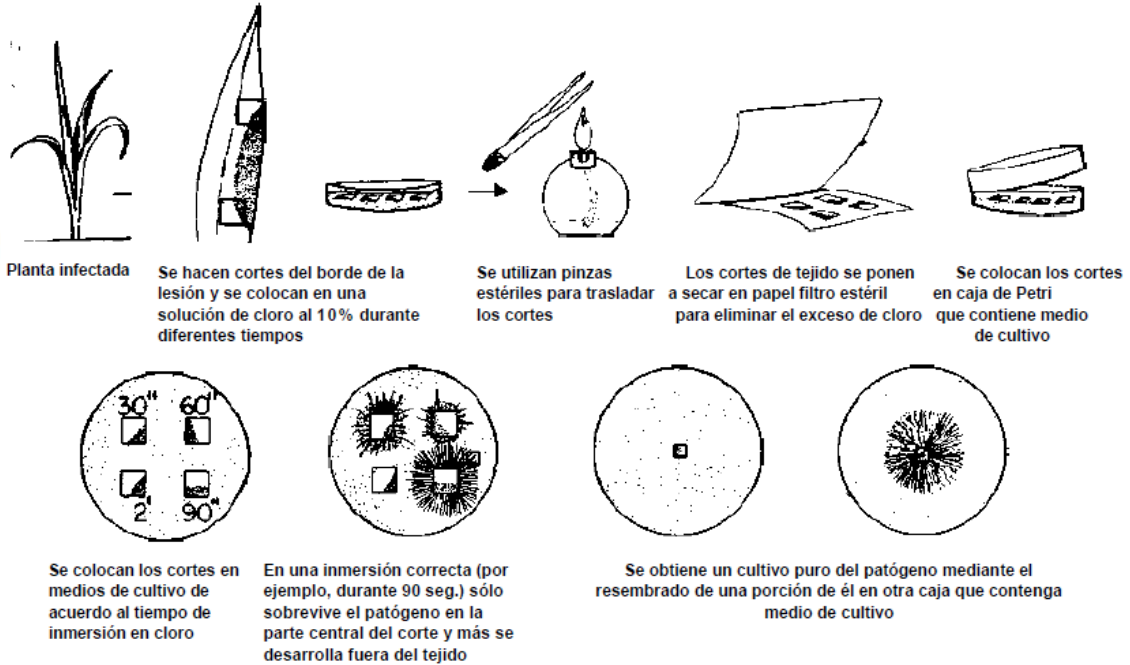
Se colecta una planta que presente marchitez provocada por *F. oxysporum*.

La planta que se colecta tiene que ser completa incluyendo una muestra de suelo de dónde se encuentre sembrada la planta.

Se seleccionan tejidos enfermos y tejidos al parecer sanos (figura 8). Esos cortes se colocan en una de las soluciones esterilizantes de superficie, lo cual asegura que esas superficies se humedezcan y al cabo de 3 s ó 15 s los cortes se toman asépticamente uno por uno a intervalos regulares de tiempo, a fin de que cada uno de ellos se esterilice (a nivel de su superficie) a diferentes tiempos. Posteriormente, los cortes se secan con

trozos limpios de papel estéril o se pasan por tres cambios con agua estéril, y por último se colocan sobre el medio nutritivo (por lo común, de 3 a 5 por caja de Petri).

Posteriormente, las colonias del patógeno, se re siembra asépticamente para su posterior estudio.



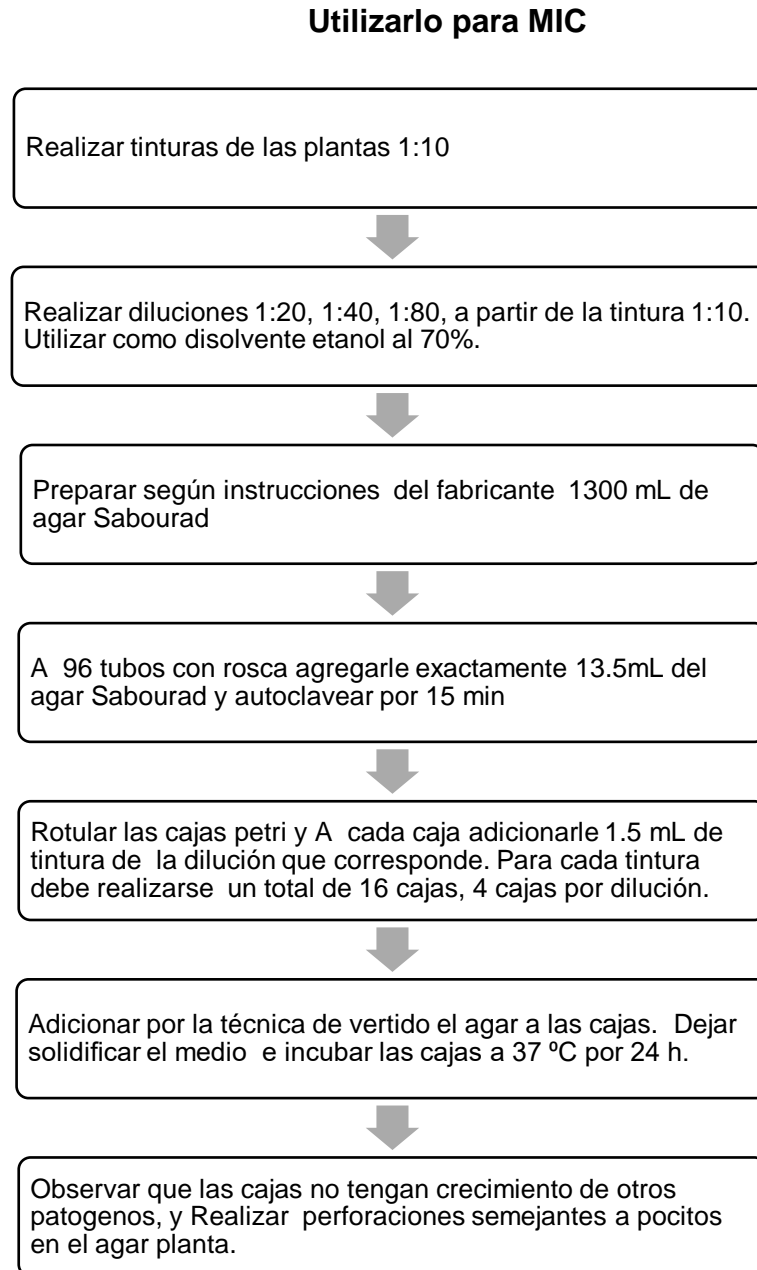
Fuente: Agrios, 1996.

Figura 21. Aislamiento de hongos patógenos del tejido de planta infectada.

## 2.2.17 Tamizaje<sup>4</sup> antimicótico *in vitro*

### A. Primera parte

Para la preparación del agar planta se utilizará la siguiente metodología (figura 9)



Fuente: Agrios, 1996.

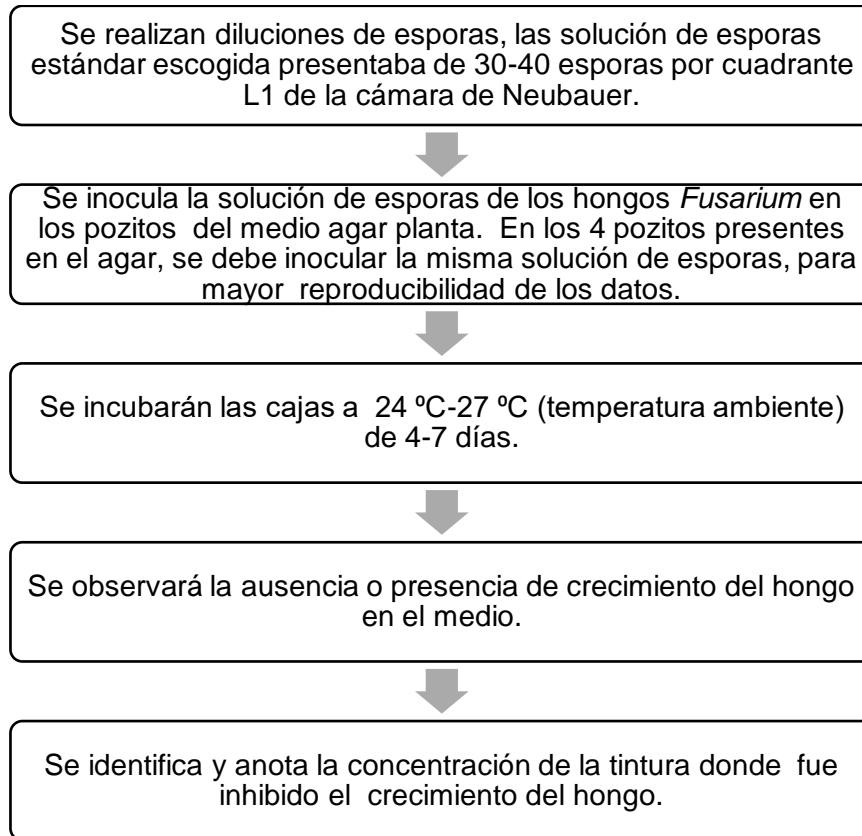
Figura 22. Proceso para el tamizaje de hongos fitopatógenos.

<sup>4</sup> El término tamizaje se refiere a todos los procedimientos utilizados para determinar la efectividad del extracto contra el crecimiento del hongo, esto a nivel de laboratorio.

También se utiliza para indicar las primeras etapas de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta.

## B. Segunda parte

Inoculación de hongos filamentosos en placa, de acuerdo a la siguiente metodología:



Fuente: Agrios, 1996.

Figura 23. Inoculación de hongos filamentosos en placa.

## 2.3 OBJETIVOS

### 2.3.1 Objetivo general

Establecer el grado de control de *Fusarium oxysporum* Schltdl. *in vitro* a través de tres extractos vegetales con potencial fungicida.

### 2.3.2 Objetivos específicos

1. Determinar la efectividad de los mejores extractos vegetales en diferentes concentraciones a través del porcentaje de inhibición de micelio de *F. oxysporum* *in vitro*.
2. Identificar el estadio en el que se desarrolla *F. oxysporum* en los tratamientos probados como indicativo de su virulencia.

## 2.4 HIPÓTESIS

Bajo condiciones de laboratorio, al menos uno de los extractos vegetales de *M. ursina*, *O. micranthum*, *A. farnesina* tiene un efecto positivo sobre la inhibición del crecimiento de micelio *F. oxysporum*.

## 2.5 METODOLOGÍA

**2.5.1 Para el cumplimiento del objetivo específico uno se utiliza la metodología para la obtención de extractos vegetales y su evaluación en la inhibición de *F. oxysporum***

### 2.5.2 Colecta del material vegetal

Las plantas que trabajadas fueron:

Ocimum micranthum  
Acacia farnesiana  
Mimosa ursina

El criterio de selección de las plantas por abundancia en la aldea El Pinalito, San Pedro Pínula, Jalapa, en época lluviosa (mayo-octubre).

Las plantas se colectaron en ambientes silvestres, en etapa vegetativa, lo cual es permisible, aunque no hayan tenido flor según Aizpurua Intxausti, Besga Salazar, Uriarte, Margarita, & Amenabar Arzuaga (1996), debido a que en esta etapa se concentra la mayor cantidad de sustancias creadas por los procesos metabólicos de las plantas (figura 24).



Fuente: Sheila Méndez, 2016.

Figura 24. a) *M. ursina* b) *O. micranthum* c) *A. farnesiana*.

Para secar las plantas se colocaron sobre costales por aproximadamente 48 h a 72 h a la intemperie, con una temperatura promedio de 33 °C-34 °C, la única que se secó bajo en un secador fue *M. ursina*, a una temperatura aproximada de 30 °C-35 °C, por 12 h-24 h.

Se rotularon y almacenaron durante un mes, para el posterior análisis.



### 2.5.3 Determinación de porcentaje de humedad en las especies evaluadas:

Se determinó el porcentaje de humedad en el laboratorio donde se tomaron muestras de 0.5 g de material vegetal por 10 min en una balanza de humedad, este procedimiento se realizó para las tres especies de plantas *M. ursina*, *A. farneciana* y *O. micranthum*, teniendo un porcentaje de humedad por debajo de 10 % (figura 35A y cuadro 18A).

### 2.5.4 Prueba de mejor solvente

- a) Las tres especies de plantas se sometieron a prueba de mejor solvente utilizando etanol a concentraciones de 30 %, 50 %, 70 % y 90 % v/v<sup>5</sup>, las cuales se prepararon a partir de etanol al 95 % v/v.
- b) Se prepararon los percoladores colocando un pedazo de algodón al fondo del mismo y papel filtro.
- c) A cada percolador con 4 g de material vegetal, se le agregaron 20 mL de etanol con las concentraciones mencionadas anteriormente, en el primer inciso.
- d) El material se dejó reposar durante 24 h (figura 36A y 37A).
- e) Después de pasadas las 24 h se dejaron secando 12 crisoles por 1 h a 110 °C, después se sacaron del horno y se colocaron en la desecadora por un rango de 25min -30min, hasta que estuvieran a temperatura ambiente, posteriormente se tararon<sup>6</sup> (figura 38A).
- f) Se recogió la tintura de los percoladores en beakers de 30 mL.
- g) Se agregó 1 g de tintura a cada uno de los crisoles que se tararon en el inciso e).

---

<sup>5</sup> Concentración física representada en volumen/volumen (v/v)

<sup>6</sup> Tara: es el peso del recipiente donde se colocará el material que se utilizará para una reacción, medición, incineración, etc.

- h) Se evaporó todo el disolvente, esto se realizó en una estufa dentro de la cámara de extracción de gases (con el objetivo de evitar contaminación ambiental y alguna intoxicación por los gases generados), este procedimiento se hace para las cuatro tinturas (30 %, 50 %, 70 % y 90% etanol), de cada especie.
- i) Después de evaporado el disolvente, se pesó el crisol y se sacó el porcentaje de sólidos totales obtenidos en cada concentración del disolvente.
- j) Obteniendo los mejores solventes, se procedió a montar el percolador profesional de donde se obtendrían las tinturas de las tres muestras vegetales (figura 39A).
- k) Estos percoladores profesionales se prepararon, colocando algodón al fondo y papel filtro al igual que los percoladores utilizados para la obtención del mejor solvente.
- l) En estos percoladores se coloraron 200 g de material vegetal y 2 L de etanol al 90 % para *M. ursina*, al 70 % para *A. farnesiana* y 70 % *O. micranthum* (figura 40A).
- m) Cada percolador con el material vegetal se dejó reposar durante 24 h, hasta que se obtuvo el primer volumen de tintura, el cual debió y fue igual a la cantidad de etanol agregada (para este caso 2 L).
- n) Al obtener los 2 L de tintura, se procedió a concentrarla hasta obtener el extracto, este procedimiento se realizó en el rotavapor (figura 40A).
- o) En la primera extracción utilizando el rotavapor se recuperaron los dos L de tintura agregados inicialmente, después se agregó nuevamente el etanol recuperado<sup>7</sup> al percolador, dejando reposar nuevamente durante 24 h hasta obtener una tintura, ésta cada vez que se le agrega el etanol recuperado se fue tornando incolora, lo cual se logró después de cuatro lavadas<sup>8</sup>.

---

<sup>7</sup> Se le llama etanol recuperado al etanol que se extrae con el rotavapor para la obtención del extracto.

<sup>8</sup> Lavada: Es cuando se agrega el etanol recuperado por el rotavapor a los 200 g de material vegetal que se agregaron para la obtención de la primera tintura.

- p) El extracto seco se obtuvo después de cuatro lavadas.

### **2.5.5 Aislamiento, purificación e identificación de *F. oxysporum***

### **2.5.6 Colecta de material vegetal infectado**

- a) Para la realización de la purificación y el aislamiento de este hongo se realizó una mezcla del procedimiento propuesto por Agrios, (1996) y algunas técnicas utilizadas dentro del laboratorio de fitosanitario del Ministerio de Agricultura y Ganadería y Alimentación (MAGA):
- b) Se colectaron plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) que presentaban marchitez provocada por *F. oxysporum* (figura 29A), Según la sintomatología propuesta por Leyva (1992) citado por Gardezi, y otros (2001):
- Marchitez ascendente de la planta.
  - Hojas basales amarillas o necrosadas.
  - Pudrición en la raíz y tallos
  - Marchitamiento vascular
- c) Las plantas que se colectaron fueron completa incluyendo una muestra de suelo donde se encontraba sembrada.
- d) Las muestras se trasladaron al centro de diagnóstico parasitológico de la Unidad de Vinculación y Gestión de Recursos (UVIGER) en la Facultad de Agronomía, en bolsas plásticas transparentes, cada planta con raíz y suelo.

### 2.5.7 Preparación de cristalería y medios de cultivo

- e) En el primer aislamiento del hongo se procedió a la esterilización de cajas de petri, tubos de ensayo, pipetas, pinzas de metal, bisturí etc., mediante un autoclave (120 °C durante una hora o más a 15 psi<sup>9</sup>).
- f) Se preparó papa-dextrosa-agar (PDA) colocando 33 g de esta en un litro de agua en matraces que posteriormente se taparon y colocaron en autoclave a 120 °C y a 15 lb de presión durante 20 min.
- g) El medio de cultivo (PDA) esterilizado se dejó enfriar durante un cierto tiempo y posteriormente. Se vertieron 15 mL en cada caja de petri que fue previamente estéril, este procedimiento se llevó a cabo lo más asépticamente posible, en la sala de cultivo apartada, libre de corrientes de aire y polvo dentro de la cámara de flujo laminar.

### 2.5.8 Aislamiento y purificación del hongo

- a) Las muestras colectadas presentaron la sintomatología característica de *F. oxysporum*, por lo que no fue necesario colocarla previamente en cámara húmeda (figura 41A).
- b) En el tren de desinfección se colocaron los trozos de material vegetal los cuales habían sido cortados en pedazos de aproximadamente 1 cm, pasando por agua desmineralizada, hipoclorito al 1 %, nuevamente en agua desmineralizada, etanol al 70 %, agua desmineralizada, hipoclorito al 1 % y por último agua desmineralizada, respectivamente 3 s o más en cada solución (figura 42A), para su posterior traslado a la cámara de flujo laminar.
- c) El material vegetal desinfectado se colocó en pedazos de papel estéril para que se secan y después se colocaron en las cajas petri con PDA.

---

<sup>9</sup> PSI es una medida de presión que indica 15 lb.pulg<sup>-2</sup>

- d) A los 15 días después de inoculado el material vegetal infectado, se observó el crecimiento del hongo, presentándose dos coloraciones rosado y morado.
- e) Posteriormente de las cajas petri cultivadas se sacaron fragmentos de PDA con el patógeno que se colocaron en otras cajas petri, este procedimiento se realizó tres veces, hasta identificar el hongo, el cual fue avalado por el laboratorio de sanidad vegetal del MAGA.
- f) Cuando hongo se purificó e identificó que únicamente era *F. oxysporum*, se cultivaron 5 cajas petri, las cuales se utilizaron para para montar el experimento (figura 43A).

### 2.5.9 Identificación cualitativa de metabolitos secundarios

Para la identificación de los metabolitos se utilizó la metodología brindada por el Laboratorio de Investigación Productos Naturales de la Facultad de Farmacia de la Universidad de San Carlos, Lipronat (2013) (figura 44A).

### 2.5.10 Identificación de alcaloides

#### Ensayo semimicro

- a) Se pesó 0.2 g de extracto y se disolvió en 10 mL de metanol.
- b) Se agregó 2 gotas de solución de hidróxido de amonio al 10 % (p/v).
- c) Se filtró con papel filtro Whatman 1 y se acidifico el filtrado con 2 gotas de ácido clorhídrico al 2 N<sup>10</sup>.
- d) La solución que resultó de los pasos anteriores se dividió en 4 tubos de la siguiente manera:

---

<sup>10</sup> Normal (N): es una medida de concentración química, lo cual significa miliequivalentes por litro de solución.

Tubo 1: Agregó 5 gotas de reactivo de Mayer's<sup>11</sup> (Positivo con una coloración blanco crema).

Tubo 2: Agregó 5 gotas de reactivo de Dragendorff<sup>12</sup>. (Positivo con coloración naranja)

Tubo 3: Agregó 5 gotas de reactivo de Wagner<sup>13</sup>. (Positivo coloración marrón)

Tubo 4: Testigo.

Los tubos se observaron después de 2 h, pudiendo ver los posibles precipitados, turbidez o complejos y se utilizó como estándar soluciones al 1 % de atropina y papaverina.

### **Cromatografía en capa fina**

- a) Se pesó 0.1 g de extracto y se disolvió en 5 mL de metanol.
- b) Se agregó 1 mL de hidróxido de amonio al 10 % (p/v) y se acidificó con 2 gotas de ácido clorhídrico al 2 N.
- c) Se filtró y concentro.
- d) Con ayuda de tubos capilares graduados se aplicó en la capa de sílica gel, utilizando como estándar una solución de atropina y papaverina al 1 % en metanol 10 µL.

### **2.5.11 Investigación de flavonoides y antocianinas**

Detección macro:

- a) Se pesó 0.2 g de extracto y se diluyó en 10 mL de etanol al 95 %, se disolvió empleando baño ultrasónico.
- b) El contenido diluido se dividió en 5 tubos:

Tubo 1: Se agregó 0.5 mL de ácido sulfúrico concentrado.

Tubo 2: Se agregó 3 gotas de cloruro férrico al 10 % (p/v)

Tubo 3: Se agregó 0.5 mL de ácido clorhídrico concentrado y se calentó en baño de maría por 5 min (para prueba de leucoantocianinas)

---

<sup>11</sup> Mayer's reactivo hecho a partir de 1.36 g de HgCl<sub>2</sub> en 60 mL de agua, 5 g de KI (yoduro de potasio) en 10 mL de agua. Mezclar todo y llevar a 100 mL.

<sup>12</sup> Dragendorff, reactivo hecho a partir de 8 g de Bi NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 5 H<sub>2</sub>O en 20 mL de HNO<sub>3</sub>, 27.2 g KI en 50 mL de H<sub>2</sub>O. Mezclar, reposar y decantar sobrenadante. Llevar a 100 mL.

<sup>13</sup> Wagner este reactivo hecho a partir de 1.27 g de I<sub>2</sub> + 2 g KI en 5 mL de agua y se diluye a un volumen de 100 mL.

Tubo 4: Se agregó magnesio metálico y 0.5 mL de ácido clorhídrico concentrado.

Tubo 5: Testigo.

Se evaluaron las reacciones, cambios de color y formación de precipitado con el testigo. El desarrollo de color amarillo o rojo indica flavonas o flavonoles, la coloración rojo o magenta indica flavononas, amarillo isoflavonas, chalconas y auronas no presentan ninguna coloración.

### **Cromatografía**

- a) Se pesó 0.1 g de extracto con 5 mL de metanol.
- b) Se colocó por 5 min en baño de maría a 60 °C.
- c) Se filtró la solución.
- d) Con ayuda de tubos capilares se aplicó a la cromatoplaque.
- e) Como estándar se utilizaron 10 µL de solución de flavonoides al 0.05 % de metanol.
- f) Como revelador se utilizó Acetato de etilo, ácido fórmico, ácido acético glacial en proporciones de 50:5.5:5.5 respectivamente.
- g) Identificación bajo luz UV, manchas rojas, azules o morada.

#### **2.5.12 Identificación de antocianinas**

Para la identificación de estas se realizó el mismo procedimiento para la identificación de flavonoides, la única diferencia es que se utilizó como estándar Rojo de Sudán.

Como revelador se utilizó: Anisaldehído, ácido sulfúrico.

Identificación bajo luz UV, manchas rojas, azules o moradas.

#### **2.5.13 Identificación de cumarinas**

Ensayo macro:

- a) Se pesó 0.1 g de extracto seco, el cual se disolvió en 5 mL de metanol.

- b) Se agregó 1 mL de agua destilada hirviendo, y con ayuda de un tubo capilar se hicieron 2 manchas en papel filtro (figura 46A).
- c) A una mancha se le agregó una gota de hidróxido de potasio al 0.5 N.
- d) Se observó en luz ultravioleta, para identificar.

#### Ensayo micro:

- a) Se realizó cromatografía en capa fina, en la cual se pesó 0.1 g de extracto y se disolvió en 5 mL de metanol.
- b) Se filtró con ayuda de embudos y papel filtro.
- c) El extracto filtrado se lleva a la cámara de extracción de gases, donde se evaporó hasta un volumen de 1 mL.
- d) Se aplicaron 20 µl (esto se realizó con ayuda de tubos capitales graduados), en una cromatoplaqueta de sílica gel.
- e) Se utilizó como estándar canela en metanol al 1 % v/v.
- f) La fase móvil de la cromatografía se hizo una mezcla de tolueno-acetato de etilo en proporción 93:7 (figura 47A).
- g) Para la identificación positiva se observó una fluorescencia de color azul o verde.

#### 2.5.14 Identificación de esteroides y triterpenos

- a) Se pesó 0.1 g de extracto y se disolvió en 5 mL de etanol.
- b) El extracto disuelto se filtró y se le agregó el reactivo de Lieberman y Burchard<sup>14</sup>.
- c) Prueba positiva se presenta una coloración azul, azul verdoso, esto debido a los dos enlaces conjugados entre C=C conjugados.

#### 2.5.15 Identificación de taninos

##### Ensayo macro

- a) Se pesó 0.1 g de extracto y se disolvió en 5 mL de metanol.

---

<sup>14</sup> El reactivo de Lieberman y Burchard, está hecho a base de unas pocas gotas de ácido acético y 3 ml de anhídrido acético-ácido sulfúrico (50:1).



- b) Los extractos disueltos se filtraron y se evaporó hasta sequedad.
- c) Al residuo se le agregó 10 mL de agua caliente, se agito y se filtró.
- d) Al extracto filtrado en el inciso anterior se le agregó 0.5 mL de cloruro de sodio al 10 % y se filtró nuevamente.
- e) La solución filtrada en el inciso anterior se dividió en 4 tubos de ensayo, los cuales se identificaron como:

Tubo 1: Testigo

Tubo 2: 4 o 5 gotas de gelatina al 1 % (p/v)

Tubo 3: Se le agregó 4 gotas de gelatina-sal (1 % de gelatina y cloruro de sodio al 10 %).

Tubo 4: Se le agregó 3 gotas de solución de cloruro férrico al 10 % (p/v).

La prueba da positiva en la formación de un precipitado o cambio de coloración.

El tubo con cloruro férrico indica positivo con una coloración grisáceo-negro: catecol; negro-azulado: pirogalol.

#### **2.5.16 Identificación de principios amargos**

- a) Se pesó 0.1 g de extracto y se disolvió en 10 mL de metanol.
- b) El extracto disuelto se filtró.
- c) Posterior a eso con ayuda de tubos capilares graduados se agregaron 20 µl.
- d) Se utilizó como estándar artemisina al 1 % en metanol de este también se agregan 20 µl en la cromatoplaca.
- e) Se utilizó como fase móvil acetato de etilo-metanol-agua en proporciones de 77:15:8 respectivamente.

#### **2.5.17 Tamizaje antimicótico *in vitro***

La cepa de hongo de *F. oxysporum* previamente purificada e identificada se hizo la prueba en los tres extractos con tres diferentes dosis, para los cual se realizó el siguiente procedimiento:

- a) Las concentraciones evaluadas fueron de 0.005 g/mL, 0.01 g/mL, 0.015 g/mL (equivalente a 5 g/L, 10 g/L, 15 g/L de extracto seco en etanol al 50 % (Rodríguez & Montilla, 2002), y se agregó 0.01 ml de ácido tartárico al 1 % (Acumedia, 2017).
- b) Para la preparación de los extractos antimicóticos se utilizaron 0.005, 0.01, 0.015 g/mL de extracto por 13.5 mL de papa dextrosa de agar y 0.001 mL de ácido tartárico, esto se agregó por cada caja Petri.
- c) Primero se pesaron 0.005, 0.01, 0.015 g/mL de cada uno de los extractos, empezando con *M. ursina* que se identificó con A, *A. farnesiana* identificada con B, y por último *O. micranthum* C, esto se realizó en una balanza analítica, para evitar el máximo error posible .
- d) Las cantidades descritas en el inciso c) se diluyeron en etanol al 50 % v/v en tubos de ensayo de 20 mL, esto se realizó con ayuda del sonicador de baño<sup>15</sup>.
- e) Los extractos se colocaron en una rejilla y se desinfectaron con etanol al 70 % antes de ingresarlos a la campana de flujo laminar.
- f) Después se preparó el medio de cultivo utilizando el mismo procedimiento siguiendo los incisos de e) a g) del apartado de preparación de medios de cultivo.
- g) Se ingresó el PDA en la cámara de flujo laminar, donde se dejó enfriar, hasta verterlo en cajas petri y se agregó también el ácido tartárico.
- h) Se dejó enfriar la mezcla de extracto, PDA y ácido tartárico.
- i) Por último se inoculó el hongo en las cajas Petri con la mezcla descrita anteriormente.

---

<sup>15</sup> Aparado utilizado para diluir sustancias, que utiliza el principio de la emisión de ondas de sonido o baños ultrasónicos.

### **2.5.18 Para el cumplimiento del objetivo específico dos se realiza la identificación de estados de desarrollo del hongo *F. oxysporum***

Para la identificación del hongo se siguió la metodología del laboratorio de fitopatología del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA):

- a) Se tomó una muestra de cada tratamiento.
- b) Se desinfectó la cámara de flujo laminar y se colocaron las cajas Petri de todos los tratamientos.
- c) Con la ayuda de un estereomicroscopio se procedió obtener las estructuras del hongo haciendo un raspado con una aguja de disección.
- d) Se colocaron las estructuras del hongo en un portaobjetos y se le agregó una gota de lugol de color azul.
- e) Se procedió a colocar un cubreobjetos y se colocó en un microscopio.
- f) Con ayuda y experiencia del Ing. Nelson García se identificaron todos los estadios de desarrollo del hongo *F. oxysporum*.

### **2.5.19 Para el cumplimiento de los objetivos específicos uno y dos se realizó la siguiente metodología experimental**

En el diseño experimental que se utilizó un arreglo factorial con dos factores, donde se evaluó el efecto tres especies de plantas (*M. ursina*, *A. farnesiana*, *O. micranthum*) y la concentración de los extractos (0.005 g/mL, 0.01 g/mL y 0.015 g/mL, donde se obtuvieron 9 tratamientos, utilizando como unidad experimental una caja Petri, dispuestas completamente al azar con tres repeticiones, de la cual se midió con una regla graduada el diámetro de colonización del micelio del hongo, calculando así el porcentaje de inhibición, donde se hizo el cálculo del área no colonizada por el hongo (ecuación 1).

$$\% \text{ de inhibición} = 100 - \left( \frac{\text{Área colonizada} * 100}{\text{Área total}} \right)$$

Ecuación 1 Cálculo del porcentaje de inhibición del hongo *Fusarium oxysporum*.

Los datos de crecimiento en centímetros de micelio fueron tomados a los 9 días después del aislamiento del hongo en los tratamientos

### 2.5.20 Modelo estadístico

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

**Donde:**

$Y_{ij}$ : Variable respuesta en la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento medida en el número de esporas por cuadrante.

$\mu$ : Media general.

$\alpha_i$ : Efecto del i-ésimo extracto de plantas para el control de hongos, fotopatógenos.

$\beta_j$ : Efecto de la k-ésima concentración del extracto.

$\alpha\beta_{ij}$ : Efecto del ij-ésima interacción de las tres especies de plantas utilizadas con la concentración del extracto obtenido de las mismas.

$\varepsilon_{ij}$ : Error experimental asociado a la ij-ésima unidad experimental.

**Donde:**

T1, T2, T3..... T12= Combinación de los factores especie, solvente y dosis (concentración) (cuadro 1 de anexos).

La distribución de los tratamientos se realizó aleatorizando cada uno de estos con sus respectivas repeticiones colocándolos en una incubadora a 26 °C, aplicando el factor A, que era la especie con sus diferentes concentraciones las que se identificaban como

factor B dentro del modelo, teniendo como testigo cajas Petri únicamente con PDA, sin la aplicación de los extractos.

## 2.6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 2.6.1 Identificación cualitativa de los metabolitos secundarios de los extractos

En la cuadro 9 se presentan un resumen del rendimiento en la obtención de extracto en seco a partir de 200 g de material vegetal en este caso se utilizaron hojas.

Cuadro 10. Porcentaje de rendimiento de material vegetal a extracto en seco.

<b>Especie</b>	<b>Extracto en seco (g)</b>	<b>Rendimiento (%)</b>
<i>M. ursina</i>	107.1	30.29
<i>A. farnesiana</i>	100.97	31.50
<i>O. micranthum</i>	138.7	38.64

Al realizar las pruebas de rendimiento de material vegetal de materia verde a materia seca se obtuvo un mayor rendimiento en *O. micranthum* con un rendimiento del 38.64, el cual está por debajo de los rangos de rendimientos reportados para el género *Ocimum*, debido a que se han reportado datos de 50 %-55 %, según estudios realizados por Briseño Ruiz, Agilar García y Villegas Espinoza, 2013, citado por (Pazmiño & Sanchez, 2016) debido a que las plantas que se colectaron se encontraban de forma silvestre. Para el caso de *A. farnesiana* el rendimiento encontrado también se reporta por debajo de los resultados obtenidos por otras investigaciones, debido a que el obtenido fue de 31.5 %. Para *Mimosa* también se encontró que los rendimientos de materia seca obtenidos en esta investigación están por debajo de los reportados en otras investigaciones, teniendo 30.29 % y el rendimiento encontrado está en 38 % según (Murillo, Chacón, Ramírez, & Álvarez, 2015).

El extracto que tuvo mayor rendimiento a partir de material vegetal seco fue *O. micranthum* seguido de *A. farnesiana* y *M. ursina*.

## 2.7 Tamizaje fitoquímico

A continuación se presentan los resultados del tamizaje fitoquímico que se realizó en el laboratorio de productos naturales de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

En el cuadro 11 se presentan los resultados de las pruebas a nivel macro<sup>16</sup> utilizadas para la identificación de los principales metabolitos secundarios:

Cuadro 11. Tamizaje fitoquímico a nivel macro.

Metabolito	Reactivo	<i>M. ursina</i>	<i>A. farnesiana</i>	<i>O. micranthum</i>
Alcaloides	Mayer's	+	-	+
	Dragendorff	+	-	+
	Wagner	+	+	+
Flavonoides	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	+	+	+
	FeCl <sub>3</sub> +HCl	+	+	+
	Mg Metálico	-	-	+
Cumarinas	Fluorecencia	+	+	-
Esteroides y triterpenos	Buchard	+	+	+
	Carl Price	+	+	+
Sesquiterpenlactonas	Legal	+	+	+
	Baljet	+	+	+
Taninos	Gelatina 1 %	-	-	-
	Gelatina-sal 1 %	-	-	-
	Cloroformo 10 %	+	+	+

\*Signo +, indica resultado positivo.

\*\*Signo - indica resultado negativo.

<sup>16</sup> Esta pruebas se realizan en tubos de ensayo, si alguna de ellas da positivo se confirma el resultado con cromatografía.

En el cuadro 12 se presentan los resultados del tamizaje fitoquímico utilizando cromatografía planta en silica gel 60 F<sub>254</sub>.

Cuadro 12. Resultados de cromatografías.

Metabolito	Estándar	Rf estándar	Rf de extractos		
			<i>M. ursina</i>	<i>Acacia farneciana</i>	<i>O. micranthum</i>
Cumarinas	Cumarina	0.14	0.00	0.00	0.10
		0.43	0.00	0.36	0.00
	Cumarina al 1%	0.10	0.00	0.00	0.10
		0.81	0.00	0.77	0.00
Flavonoides	Quercetina	0.69	0.00	0.70	0.75
	Rutina	0.32	0.35	0.37	0.35
	Ácido clorogénico	0.48	0.52	0.51	0.51
Antocianinas	Paperina	0.92	0.94	0.93	0.93
Alcaloides	Rojo súdean	0.74	0.57	0.00	0.54

Al analizar los resultados obtenidos a través del tamizaje fitoquímico se pudo observar que de todas las pruebas realizadas para identificar los distintos metabolitos secundarios (alcaloides, flavonoides, cumarinas, esteroides y triterpenos y sesquiterpenlactonas), *M. ursina* carece de cumarinas y taninos, dando positivo para alcaloides pero únicamente con el reactivo cloroformo esto puede ser debido a que el nitrógeno sobrante que haya obtenido, por lo que las plantas almacenan este nutriente a través de la formación de estas moléculas, lo cual hace débil para la reacción con los otros reactivos (Arango, 2008).

Para la identificación de flavonoides reacción con ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) no es muy abrupta, mientras que con cloruro férrico la coloración si es abrupta a azul, lo cual indica según el protocolo del Lipronat que hay presencia de flavonoides, comparado con estudios realizados por otros investigadores indican que la familia Mimosaceae han encontrado alcaloides, lípidos, glucósidos, taninos (Quezada & Rivera, 2015). *A. farnesiana* carece de taninos y alcaloides lo cual se puede comparar con investigaciones que se han realizado con esta planta (Rodríguez A. , Ramírez, Bautista, Cruz, & Rivero, 2012). Mientras que la *O. micranthum*, según las pruebas realizadas no se encontró presencia de taninos (cuadro 11 y 12).

### 2.7.1 Efectividad combinada e individual de los extractos evaluados a través del crecimiento micelial

En el siguiente cuadro 13 se presentan los resultados en cm de crecimiento del micelio de *F. oxysporum* a partir de la aplicación los extractos vegetales a tres concentraciones a nivel in vitro.

Cuadro 13. Crecimiento de micelio en cm de *F. oxysporum*.

Especies de planta	Concentración de extracto (mg/mL)	Repeticiones		
		I	II	III
<i>M. ursina</i>	0.005	64	73	54
	0.01	59	64	66
	0.015	79	81	79
<i>A. farneciana</i>	0.005	43	38	38
	0.01	32	15	43
	0.015	42	15	18
<i>O. micranthum</i>	0.005	15	51	87
	0.01	76	74	73
	0.015	94	94	94
Testigo		0	0	0

El análisis estadístico se realizó utilizando el programa Infostat, los resultados se pueden observar a continuación:

En el cuadro 13 se hizo el análisis estadístico comparando los 9 tratamientos contra el testigo, utilizando como variable de respuesta el porcentaje de inhibición, eliminando el dato atípico de la repetición uno en el tratamiento de *O. micranthum* al 0.005 mg/mL, por normalidad de los datos.

Cuadro 14. ANDEVA para los tratamientos individuales.

F.V.	GI	SC	CM	F	p-valor
Tratamientos	9.0	22064.012	2451.557	41.3	0.00000
Error	18.0	1066.667	59.259		
Total	27.0	23130.679			



En el cuadro 15 se presentan los resultados de la comparación de las medias mediante el criterio Fisher.

Cuadro 15. Análisis post-ANDEVA de los tratamientos.

Tratamiento	Concentración (g/mL)	Media (%)	Grupo Fisher
<i>O. micranthum</i>	0.015	94.00	A
<i>M. ursina</i>	0.015	79.67	B
<i>O. micranthum</i>	0.1	74.33	B
<i>M. ursina</i>	0.005	63.67	C
<i>M. ursina</i>	0.1	63.00	C
<i>O. micranthum</i>	0.005	51.00	D
<i>A. farnesiana</i>	0.005	39.67	E
<i>A. farnesiana</i>	0.1	30.00	F
<i>A. farnesiana</i>	0.015	25.00	G
Testigo	0	0.00	H

Se evaluaron los supuestos de los modelos, donde se incluye la prueba de normalidad utilizando la prueba de Shapiro-Wilks, teniendo un valor de probabilidad de 0.1628, que indica la existencia de normalidad en los datos, al igual que la realización de la gráfica de Q-Qplot (figura 48A-53A).

Cuadro 16. Análisis de varianza como un modelo completo al azar con arreglo combinatorio (bifactorial).

F.V.	GI	SC	CM	F	p-valor
Especie	2	8421.50	4210.75	63.16	0.00000
Concentración	2	870.17	435.09	6.53	0.00846
Especie*Concentración	4	1822.22	455.56	6.83	0.00209
Error	16	1066.67	66.67		
Total	24	14007.76			

En el cuadro 16 se puede observar el análisis post-ANDEVA, encontrando con un nivel de significancia del 0.05, diferencia significativa, el mejor tratamiento es el de *O. micranthum* a 0.015 g/mL, con validez de los supuestos presentados en los anexos (figura 53A y 55A).

Cuadro 17. Comparación múltiple de medias entre las especies de plantas y la concentración sobre el diámetro de crecimiento del micelio de hongo.

<b>Especie</b>	<b>Concentración g/mL</b>	<b>Media</b>	<b>Grupo Fisher</b>
<i>O. micranthum</i>	0.015	94.00	A
<i>M. ursina</i>	0.015	79.67	B
<i>O. micranthum</i>	0.1	74.33	B
<i>M. ursina</i>	0.005	63.67	C
<i>M. ursina</i>	0.1	63.00	C
<i>O. micranthum</i>	0.005	51.00	D
<i>A. farnesiana</i>	0.005	39.67	E
<i>A. farnesiana</i>	0.1	30.00	F
<i>A. farnesiana</i>	0.015	25.00	G

En el cuadro 18 se presenta el porcentaje de inhibición medio, de cada uno de los tratamientos.

Cuadro 18. Porcentaje de inhibición de crecimiento del hongo.

<b>Especie</b>	<b>Concentración en g/mL</b>	<b>Inhibición (%)</b>
<i>O. micranthum</i>	0.015	93,8
<i>M. ursina</i>	0.015	79,8
<i>O. micranthum</i>	0.01	74,4
<i>M. ursina</i>	0.005	63,5
<i>M. ursina</i>	0.01	63,1
<i>O. micranthum</i>	0.05	51,0
<i>A. farnesiana</i>	0.05	39,1
<i>A. farnesiana</i>	0.01	30,0
<i>A. farnesiana</i>	0.015	25,1
<i>Testigo</i>	0	0

Como se puede ver se realizaron dos análisis de varianza para determinar cuál fue el mejor tratamiento, en el primer ANDEVA, se determinó con un nivel de significancia del 5 % que existe diferencia significativa entre tratamientos, encontrando el tratamiento donde se utilizó el extracto de *O. micranthum* a una concentración de 0.015 g/mL, el que presentó mayor inhibición en el crecimiento de micelio de *F. oxysporum*, con un

porcentaje de inhibición del 94 %, el segundo tratamiento que presentó inhibición estadísticamente significativa fue el extracto de *M. ursina* a una concentración de 0.015 g/mL con inhibición de 79.67 %, así mismo se pudo encontrar que las estructuras desarrolladas por el hongo fueron clamidiosporas para el tratamiento con *M. ursina* y fiálides, clamidias y microconidias unicelulares, para el tratamiento con *O. micranthum*, el hongo al encontrarse en condiciones adversas empieza a generar estructura de sobrevivencia como lo son las clamidiosporas (Graces, Orozco, Bautista, & Valencia, 2001).

En cuanto a los metabolitos secundarios se encontraron dos pruebas (FeCl<sub>3</sub>+HCl y Mg Metálico) positivas en flavonoides para *O. micranthum*, estos compuestos actúan sobre la membrana de la pared celular y atacando las estructuras reproductivas del hongo mientras que para *M. ursina* solamente dio positivo para una prueba (FeCl<sub>3</sub>+HCl). Encontrando un cero por ciento de inhibición sobre el crecimiento del hongo en el testigo (cuadro 7 y 8). Para el ANDEVA donde se analizó como un arreglo combinatorio en el cual se buscó la interacción de los factores especie y concentración se determinó que los tratamientos que estadísticamente tienen el mismo efecto son los mismos que se mencionaron anteriormente, teniendo porcentajes de inhibición de 94 % a 79,67 % para *O. micranthum* y *M. ursina*. Se realizó la validación de los supuestos de los modelos encontrando normalidad de los datos con la prueba de Shapiro-Wilks, y las gráficas de QQ-plot.

### 2.7.2 Estadios del hongo *Fusarium* en respuesta a los diferentes tratamientos

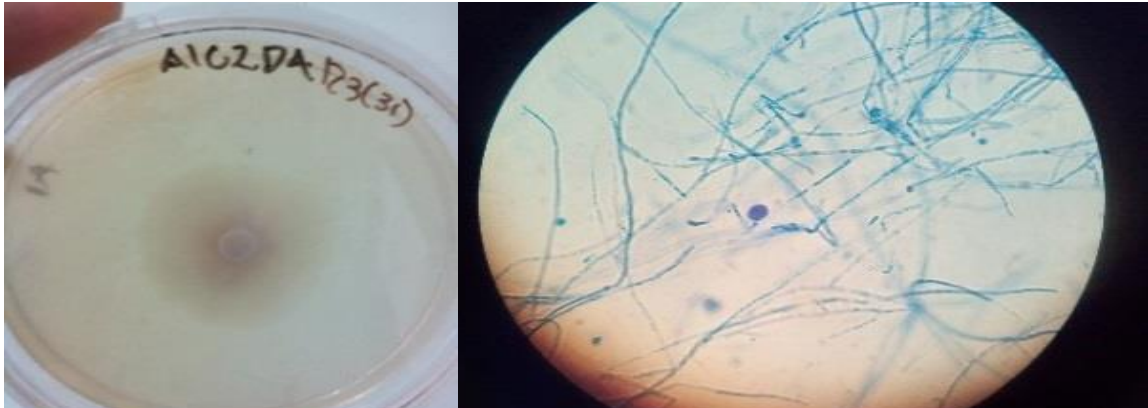


Figura 25. Clamidiosporas vistas a 40X desarrolladas en la colonización del tratamiento de extracto de *M. ursina* a una concentración de de 0.015 g/mL

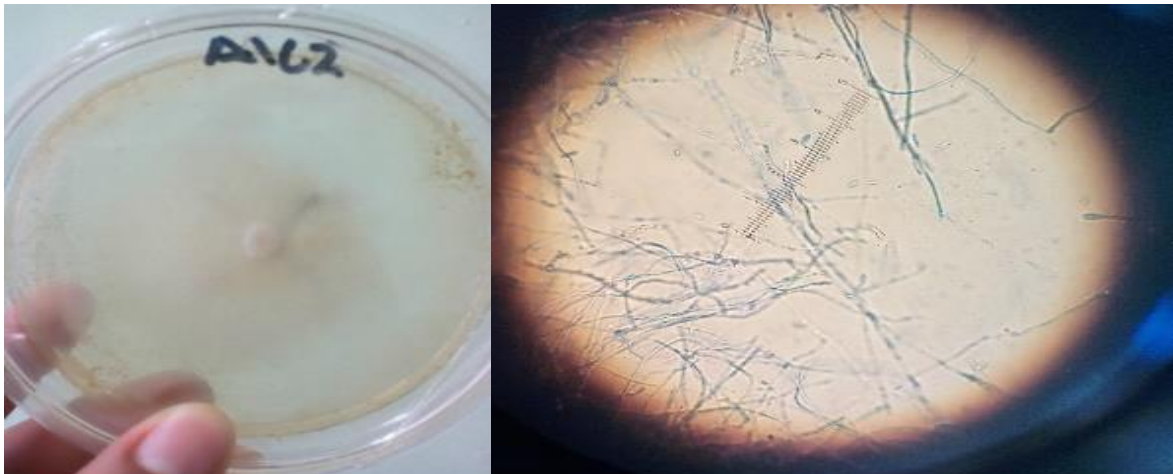


Figura 26. Conidias de tamaño 0.4  $\mu\text{m}$  desarrolladas en el tratamiento de *M. ursina* a una concentración de 0.01 g/mL.

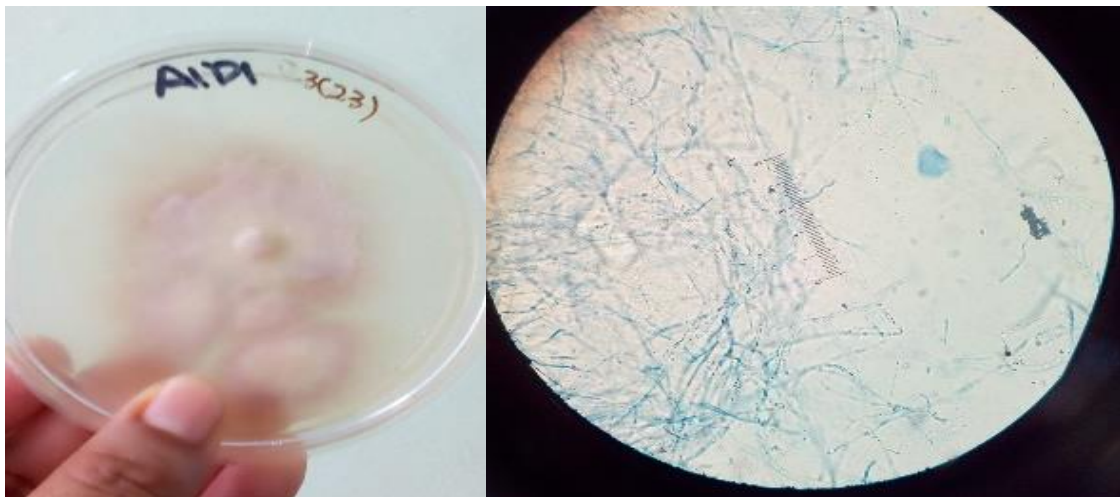


Figura 27. Conidias vistas a 40x en la aplicación del extracto de *M. ursina* a una concentración de 0.005 g/m.

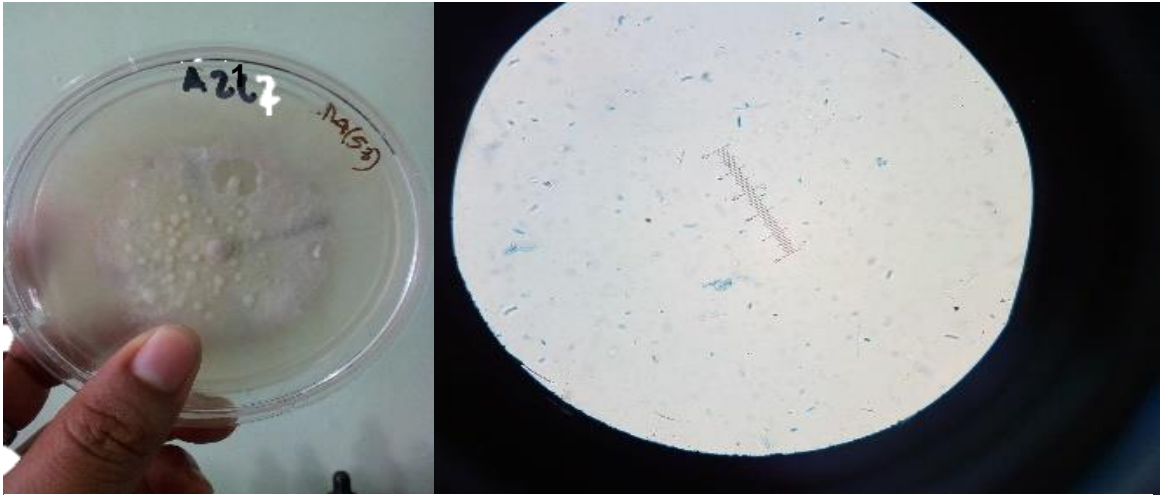


Figura 28. Microconidias vistas a 40x desarrolladas en el la aplicación de *O. micranthum* a una concentración de 0.005g/mL.



Figura 29. Conidias de 0,5  $\mu\text{m}$  vistas a 40X desarrolladas en el la aplicación de *Acacia farnesiana* a una concentración de 0.01 g/mL.

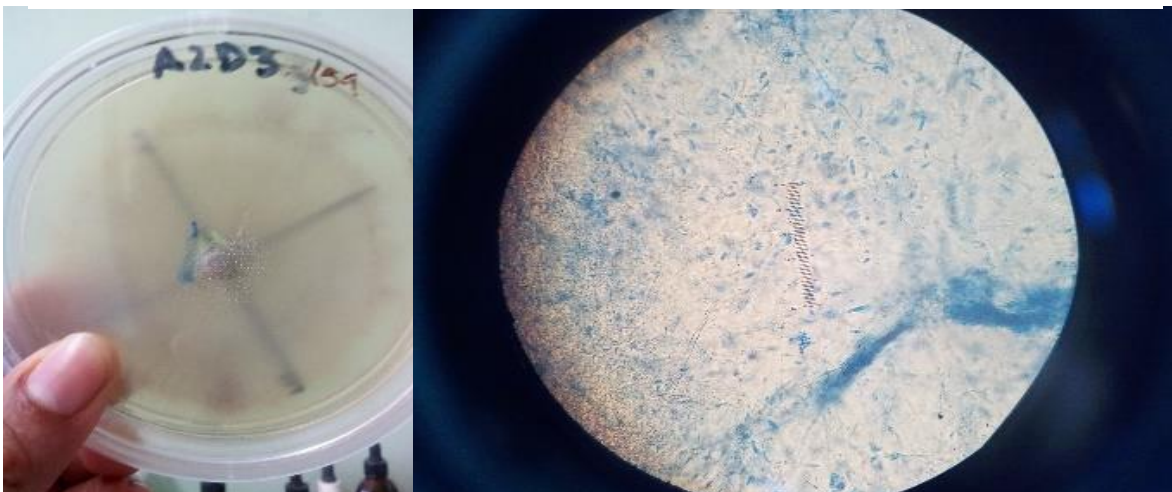


Figura 30. Conidias de 0.5  $\mu\text{m}$  vistas a 40X desarrolladas en el tratamiento de extracto de *A. farnesiana* a una concentración de 0.015 g/mL.

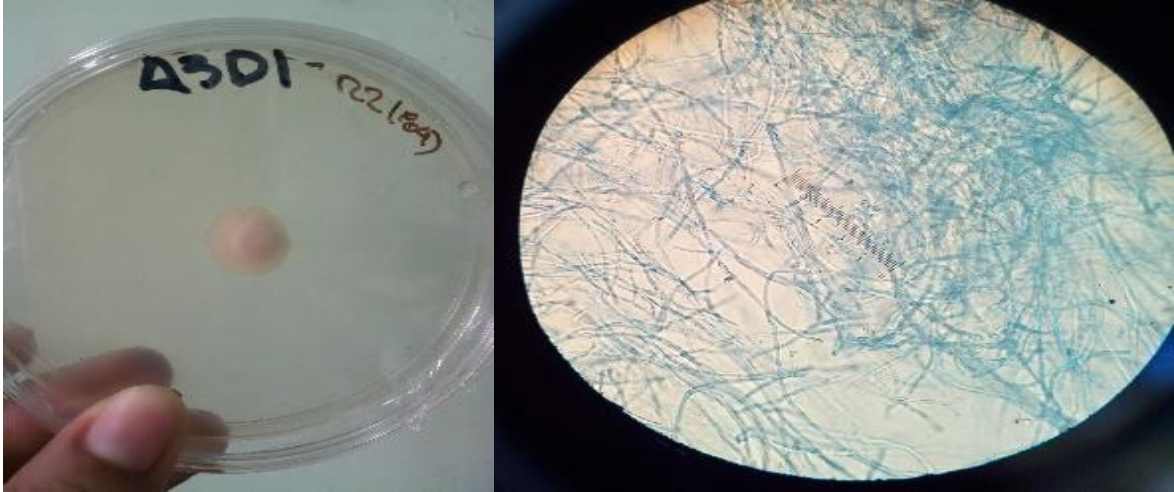


Figura 31. Conidias vistas a 40x desarrolladas en la aplicación de *A. farnaciana* a una concentración de 0,05 g/mL.

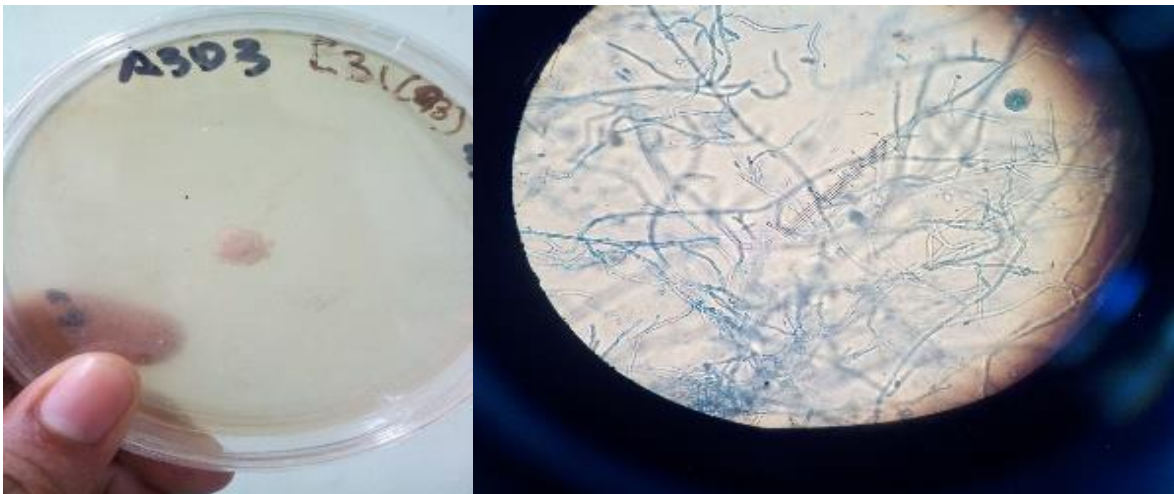


Figura 32. Microconidias vistas a 40X desarrolladas en la colonización de *Fusarium* en el tratamiento de *O. micranthum* a una concentración de 0.015 g/mL.

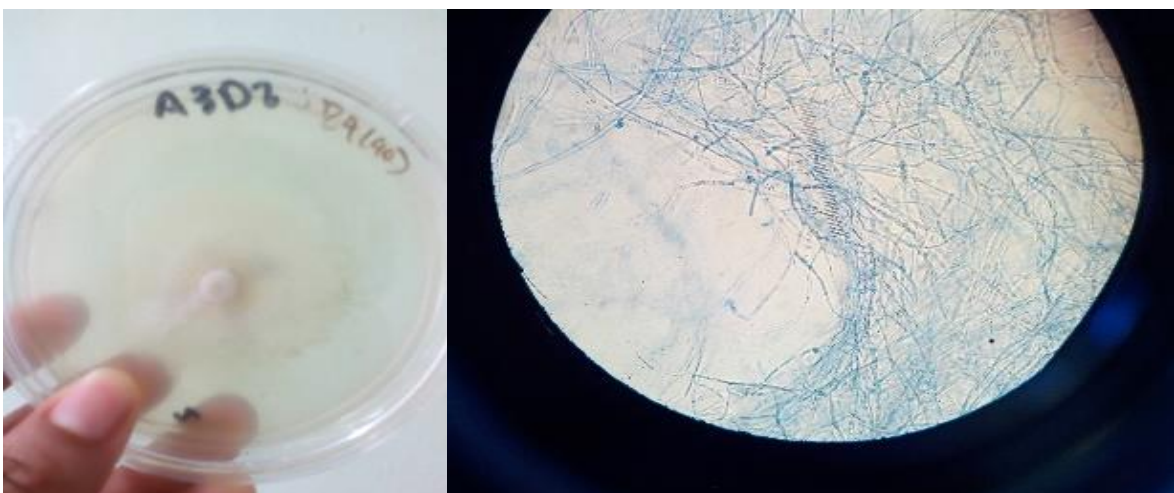


Figura 33. Microconidias vistas a 40x desarrolladas en la aplicación de *O. micranthum* a una concentración de 0.01 g/mL.

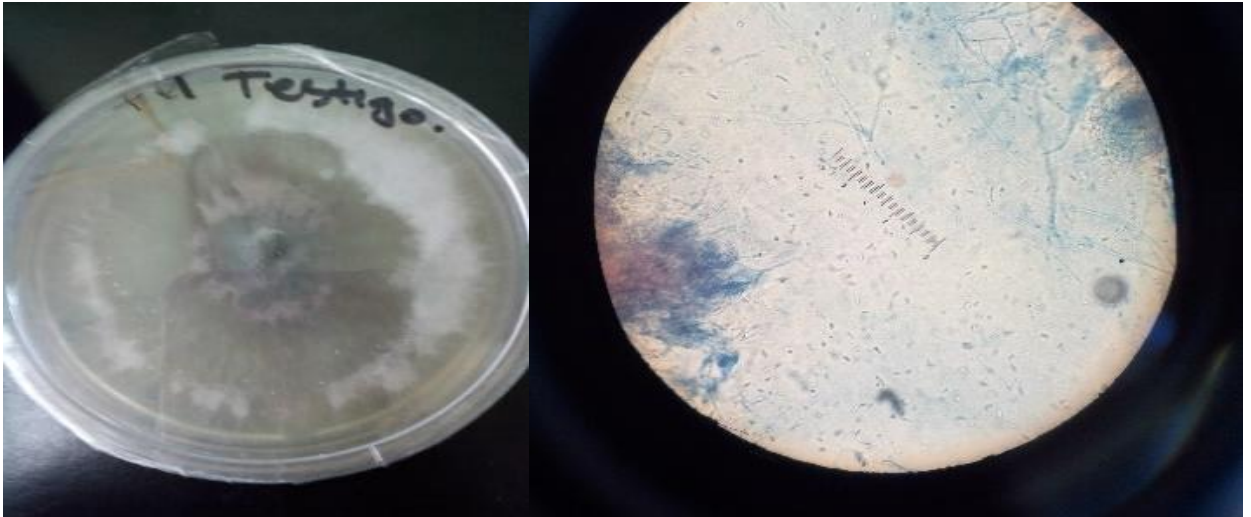


Figura 34. Conidias desarrolladas en el testigo absoluto.

En las figuras de anteriores se muestran las estructuras desarrolladas en cada uno de los tratamientos, para ello se utilizó un microscopio haciendo tomas a 40x y 10 x, encontrando en los tratamientos con menos concentración para las tres especies, el desarrollo de conidias, microconidias, estadíos y estructuras de mayor virulencia para la planta, por lo cual se llega a la conclusión de que las mayores concentraciones son las que dieron los mejores resultados, debido a que en esas se muestra el desarrollo de microconidias y clamidiosporas, para el caso de la primera es el estadio en dónde el hongo empieza a atacar, mientras que para las segundas que son estructuras de supervivencia, que el hongo utiliza para vivir miles de años, se recomienda hacer una reevaluación.

Las estructuras desarrolladas en los tratamientos que tuvieron un efecto estadísticamente significativo desarrollaron estructuras desde clamidiosporas hasta macroconidias unicelulares, esto debido a las condiciones adversas en las que se encontraba (figura 25-34).

## 2.8 CONCLUSIONES

1. El mejor tratamiento con un 94 % de inhibición fue el de *O. micranthum* a una concentración de 0.015 g/mL, seguido por *M. ursina* a 0.015 g/mL con un porcentaje de inhibición de 74 %.
2. La efectividad de los tratamientos que estadísticamente tuvieron un efecto significativo en el porcentaje de inhibición fueron las especies de *O. micranthum* y *M. ursina* ambos a una concentración de 0.015 g/mL.
3. Se identificaron las estructuras de sobrevivencia que desarrollo el hongo en los tratamientos probados, las cuales fueron microconidias en el extracto de *O. micranthum* a 0.015 g/mL y para las concentraciones de 0.005 y 0.01 g/mL se identificaron conidias, mientras que en la aplicación de *M. ursina* a 0.015 g/mL se desarrollaron clamidiosporas que son estructuras en donde el hongo no expresa su mayor virulencia en las planta y conidias para las concentraciones 0.005 g/mL y 0.01 g/mL, para el caso de *A. farneciana* las estructuras identificadas fueron conidias.



## 2.9 RECOMENDACIONES

1. A partir de las mejores especies y concentraciones que estadísticamente fueron significativas se realicen ensayos de campo para determinar si hay efectividad o inhibición por parte de los extractos sobre el desarrollo del hongo, así como también a partir de ello poder generar la formulación de un producto orgánico a partir de los datos generados en esta investigación.
2. Hacer ensayos de propagación de las plantas *M. ursina* y *O. micranthum*, para su posterior evaluación en campo.
3. Hacer un tamizaje fitoquímico cuantitativo para determinar en qué cantidades se encuentran los metabolitos secundarios encontrados en las plantas que tuvieron mayor efectividad contra el hongo *Fusarium oxysporum*.

## 2.10 BIBLIOGRAFÍA

1. Aboca, España. (2018). *Liofilización*. Obtenido de: <https://www.aboca.com/es/producir-calidad/ciclo-productivo/liofilizacion>
2. Academic. (2010). *Acacia farnesiana*. Obtenido de Wikimedia foundation: <http://www.esacademic.com/dic.nsf/eswiki/29343>
3. Acumedia. (2017). *Potato dextrose agar (7149)*. Obtenido de Neogen, Acumedia: [http://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia\\_pi/7149\\_pi.pdf](http://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia_pi/7149_pi.pdf)
4. Agrios, G. (1996). *Introducción a la fitopatología*. México: Limusa.
5. Aizpurua Intxausti, A., Besga Salazar, G., Domingo y Uriarte, M., & Amenabar Arzuaga, R. (1996). Análisis foliar, Normas para el muestreo de árboles frutales de hueso y pepita. Obtenido de *Sustrai*, 40(1), 36-38: [http://www.fraisoro.net/FraisoroAtariaDoku/40\\_36\\_38.pdf](http://www.fraisoro.net/FraisoroAtariaDoku/40_36_38.pdf)
6. Alvarado, P. A. (2005). *Universidad Austral De Chile*. Obtenido de Identificación de cepas patógenas de Fusarium Link. causantes de nueva patología en el cultivo de calas de colores bajo condiciones productivas de invernadero en Chile.: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2005/faa472i/doc/faa472i.pdf>
7. Arango, G. (2008). *Alcaloides y compuestos nitrogenados*. Obtenido de Medellín, Colombia: Universidad de Antioquía: <https://es.slideshare.net/adnestelamartin/alcaloides-2>
8. Arbeláez Torres, G. (2000). Algunos aspectos de los hongos del género Fusarium y de la especie Fusarium oxysporum. Obtenido de *Agronomía Colombiana*, 17(1-3), 11-16: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/21538/22543>
9. Armiñana, E., Sánchez, T., Reig, J., & Vicente, E. (1984). *Estudio de la sensibilidad de diversas especies fungicas frente a metabolitos naturales*. Obtenido de <https://digitum.um.es/xmlui/bitstream/10201/823/1/AB1%20%281984%29%20p%201-9.pdf>

10. Ascencio-Álvarez, A., López-Benítez, A., Borrego-Escalante, F., Rodríguez-Herrera, S. A., Flores-Olivas, A., Jiménez-Díaz, F., & Gámez-Vázquez, A. J. (2008). Marchitez Vascular del Tomate: I. Presencia de Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen en Culiacán, Sinaloa, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 26(2), 114-120. Obtenido de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S018533092008000200003&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S018533092008000200003&script=sci_arttext&tlng=pt)
11. Bejarano, F. (2012). *Plaguicidas*. Obtenido de Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México (RAPAM): <http://www.rachel.org/files/document/Pesticidas.htm>
12. Belmont, R., Cruz, V., Martínez, G., Sandoval, G., García, R., Zilch, S., & Flores, H. (2000). Propiedades antifúngicas en plantas superiores, análisis retrospectivo de investigaciones. Obtenido de *Revista Mexicana de Fitopatología*, 18(2), 125-131: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61218210>
13. Beltrán, L. (s.f.). *Sensitivas (género Mimosa)*. Obtenido de Naturalista: [naturalista.biodiversidad.co/taxa/47450-Mimosa](http://naturalista.biodiversidad.co/taxa/47450-Mimosa)
14. Biblioteca Digital de México. (2009). *Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana*. Obtenido de Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Ocimum%20micranthum&id=7196>
15. Bio-Baro. (2017). *Sure Gold; Cercospora temprana, tizón temprano*. Obtenido de Bio-Baro: <http://biobaro.com/contenido/pag%20suregold/cercospora.pdf>
16. Blanco, N., Ramos, A., & Vizoso, A. (2006). Evaluación tóxica y genotóxica del extracto fluido de *Ocimum gratissimum* L. Obtenido de *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 11(1): [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S102847962006000100003&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S102847962006000100003&script=sci_arttext&tlng=en)

17. Celoto, M., Papa, M., Sacramento, L., & Celoto, F. (2011). Atividade antifúngica de extratos de *Momordica charantia* L. sobre *Colletotrichum*. Obtenido de *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu*, 13(3), 337-341: <http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v13n3/a13v13n3>
18. Céspedes, C., & Alarcon, J. (2011). Biopesticidas de origen botánico, fitoquímicos y extractos de Celastraceae, Rhamnaceae y Scrophulariaceae. Obtenido de: *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 10 (3), 175 -181, <http://www.redalyc.org/html/856/85618379002/>
19. Consejo Nacional de Áreas Protegidas, Guatemala (CONAP). (2008). *Conocimiento tradicional colectivo y biodiversidad*. Obtenido de Guatemala y su biodiversidad: [http://www.chmguatemala.gob.gt/images/GUATEMALA\\_Y\\_SU\\_BIODIVERSIDAD/Lb%20Gt%20y%20Bd\\_cap4\\_vm.pdf](http://www.chmguatemala.gob.gt/images/GUATEMALA_Y_SU_BIODIVERSIDAD/Lb%20Gt%20y%20Bd_cap4_vm.pdf)
20. Daboussi, M. J., & Langin, T. (1994). Transposable elements in the fungal plant pathogen *Fusarium oxysporum*. *SpringerLink*, 93(1-3), 49-59. Obtenido de <https://link.springer.com/article/10.1007/BF01435239>
21. De León, R., Sanabria, M., Rodríguez, D., & Ulacio, D. (18 de Junio de 2012). *Efecto del extracto etanólico de albahaca (*Ocimum bacilicum*) sobre *Cercospora* de apio*. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4688921>
22. Essek Kimber, R. B. (2011). *Epidemiology and management of cercospora leaf spot (*Cercospora zonata*) of faba beans (*Vicia faba*)*. (Tesis PhD.). Obtenido de University of Adelaide, Faculty of Sciences, School of Agriculture, Food and Wine: <https://digital.library.adelaide.edu.au/dspace/bitstream/2440/71040/8/02whole.pdf>
23. García, J., Shagarodsky, T., Fresneda, J., Fundora, Y., & González, J. (2007). *Caracterización de especies del género *Fusarium* en el cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum*) en las provincias ciudad Habana y La Habana*. Obtenido de Notas, Ciencia y Tecnología: <http://www.utm.mx/temas/temas-docs/nota4t32.pdf>

24. García–Aguirre, G. M. F. (2010). Especies de *Fusarium* en granos de maíz recién cosechado y desgranado en el campo en la región de Ciudad Serdán, Puebla. Obtenido de *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 81(1): [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1870-34532010000100003&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1870-34532010000100003&script=sci_arttext)
25. Garcés, E., Orozco, M., Bautísta, G., & Valencia, H. (2001). *Fusarium oxysporum* El Hongo que nos Falta Conocer. *Acta Biológica Colombiana*, 7-25. Obtenido de <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/63462-326379-1-PB.pdf>
26. Gómez Cruz, M. A. (2007). La agricultura orgánica en México. Obtenido de *Revista Vinculando*, (julio 27): [http://vinculando.org/organicos/directorio\\_de\\_agricultores\\_organicos\\_en\\_mexico/la\\_agricultura\\_organica\\_en\\_mexico.html](http://vinculando.org/organicos/directorio_de_agricultores_organicos_en_mexico/la_agricultura_organica_en_mexico.html)
27. Google Maps. (2018). *USAC, Ciudad Universitaria, Zona 12*. Obtenido de Google Maps: <https://www.google.com.gt/maps/place/Universidad+de+San+Carlos+de+Guatemala/@14.584671,-90.5559859,807m/data=!3m1!1e3!4m2!3m1!1s0x8589a13c91d3040d:0xc41e0810dd744602!6m1!1e1>
28. Graces, E., Orozco, M., Bautísta, G., & Valencia, H. (2001). *Fusarium Oxysporum* el hongo que nos falta conocer. Obtenido de *Acta Biologica Colombiana*, 6(1), 7-25: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/63462>
29. Guerra B., J. O., Welchez A., J. A., Huete, M., Trabanino, R., & Matamoros, I. (2013). *Evaluación de la efectividad de cuatro fungicidas biológicos en el control del hongo de la roya de café Hemileia vastatrix*. (Tesis Ing. Agr.). Obtenido de Escuela Agrícola Panamericana "El Zamorano": Honduras: <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/1758>
30. Hernández Juárez, R. G. (2015). *Extractos vegetales para el control de hongo Rhizoctonia solani Kühn in vitro*. (Tesis Ing. Agr. Hort.). Obtenido de Universidad

Autónoma Agraria "Antonio Narro", Unidad Laguna, División de Carrera Agronómica: México:  
<http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/6912/ExtractosvegetalesparaelcontroldelhongoRhizoctoniasolaniKuhn.pdf?sequence=1>

31. Instituto Nacional de Estadística, Guatemala (INE). (2012). *Caracterización departamental*. Obtenido de INE:  
<https://www.ine.gov.gt/sistema/uploads/2013/12/09/H1fGkImDnuTymzuvrEGNJ1NKWFvGQtT6.pdf>
  
32. Kistler, H. C. (1997). Genetic Diversity in the Plant-Pathogenic Fungus *Fusarium oxysporum*. *Population Genetics of Soilborne Fungal Plant Pathogens*, 474-479. Obtenido de  
<https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PHYTO.1997.87.4.474>
  
33. Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Guatemala, USAC (LIPRONAT). (2013). *Tamizaje fitoquímico en base a extracto*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
  
34. Litardo, M. C. (2014). *Enfermedades en semillas de soja: Mancha púrpura de la semilla *Cercospora kikuchii* (T. Matsu. & Tomoyasu) Gardner*. Obtenido de Universidad Nacional de Lujan, Departamento de Tecnología:  
<http://www.patologiavegetal.unlu.edu.ar/sites/www.patologiavegetal.unlu.edu.ar/files/site/soja%20cercospora%20sojina%2014.JPG>
  
35. Lujan, U. N. (2014). *Patología vegetal*. Obtenido de Patología Vegetal:  
<http://www.patologiavegetal.unlu.edu.ar/sites/www.patologiavegetal.unlu.edu.ar/files/site/soja%20cercospora%20sojina%2014.JPG>
  
36. Luna Murillo, R., Chacón Marcheco, E., Ramírez de la Ribera, J., Álvarez Perdomo, G., Álvarez Perdomo, P., Plúa Panta, K., & Álava Murillo, A. (2015). Rendimiento y calidad de dos especies del género *Pennisetum* en Ecuador. Obtenido de *Revista Electrónica de Veterinaria*, 16(8), 1-10:  
<http://www.redalyc.org/pdf/636/63641401005.pdf>

37. Martínez-Bernal, A., Grether, R., González-Amaro, R. M. (2008). *Leguminosae I: Mimosoideae: mimosa*. Obtenido de: Xalapa, Veracruz, México: Instituto de Ecología A. C., Flora de Veracruz: [http://www1.inecol.edu.mx/publicaciones/resumeness/flover/147-martinez\\_bernal.pdf](http://www1.inecol.edu.mx/publicaciones/resumeness/flover/147-martinez_bernal.pdf)
38. Murillo, L., Chacón, M., Ramírez, R., & Álvarez, P. (2015). Rendimiento y calidad de dos especies del género *Pennisetum* en Ecuador. Obtenido de REDVET. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 16(8), 1-10: <http://www.redalyc.org/pdf/636/63641401005.pdf>
39. Neyoy, C. (2012). *Apuntes de fisiología vegetal*. Retrieved from <http://fisiolvegetal.blogspot.com/2012/11/introduccion-al-metabolismo-secundario.html>
40. Ocaña López, M. E. (2013). *Actividad antifúngica in vitro de extractos vegetales contra Fusarium oxysporum Snyd. y Hans.* (Tesis Agrobiol.). Obtenido de Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", División de Agronomía, Departamento de Botánica: México: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/6477/62754%20OCA%20C3%91A%20LOPEZ%20c%20MARTHA%20EMILIA%20%20TESIS.pdf?sequence=1>
41. Osorio-Hernández, E., Ventura-Sobrevilla, J. M., Flores-Dávila, M., Rodríguez-Herrera, F. R., Hernández-Castillo, F. D., & Aguilar, C. N. (2009). *Efectividad biológica de extractos polifenólicos contra bacterias fitopatógenas*. Obtenido de Universidad Autónoma de Coahuila, Coordinación General de Estudios de Posgrado e Investigación: <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/Documentos/AQM/AQM2/EFFECTIVIDAD%20BIOL%20C3%93GICA%20DE%20EXTRACTOS%20POLIFEN%20C3%93LICOS%20CONTRA%20BACTERIAS%20FITOPAT%20C3%93GENAS.pdf>

42. Pazmiño, G., & Sanchez, R. (2016). *Aplicación de las operaciones unitarias de lixiviación y destilación en la obtención del sustrato, con la finalidad de cuantificar el poder antioxidante de la albahaca (Ocimum basilicum L.)*. Obtenido de <https://www.slideshare.net/GustavoPatricioPazmi/tesis-dealbahaca20162017>
43. Pelicer Armiñana, E., Sánchez, T., Reig, J., & Vicente, E. (1984). *Estudio de la sensibilidad de diversas especies fungicas frente a metabolitos naturales*. Obtenido de *Anales de Biología, Murcia*, 1 (Sección Especial 1), 1-9: <https://digitum.um.es/xmlui/bitstream/10201/823/1/AB1%20%281984%29%20p%201-9.pdf>
44. Prensa Libre, Guatemala. (2015). *Conociendo San Pedro Pinula: En plena festividad en el día de San Pedro Apóstol, conoceremos un poco más acerca del municipio de San Pedro Pinula*. Obtenido de Prensa Libre, junio 29: <https://www.prensalibre.com/hemeroteca/conociendo-san-pedro-pinula>
45. Quezada García, M. W., & Rivera Martinez, M. d. (2015). *Determinación de fitoconstituyentes de la raíz y hojas de mimosa albida procedentes de Conache – La Libertad*. (Tesis Lic. Quim. Farm.). Obtenido de Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Farmacia y Bioquímica: Perú: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/3689>
46. Ramírez Osses, R. A. (2011). *Efecto de la sombra de Acacia caven (Mol.) Mol. en la pradera anual de clima mediterráneo*. (Tesis Ing. Agr.). Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas: Chile. Obtenido de <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/112323/tesis.pdf?sequence=2>
47. Ramos de León, N., Sanabria, M. E., Rodríguez, D., & Ulacio, D. (2012). Efecto del extracto etanólico de albahaca genovesa (*Ocimum basilicum* var. *Genovese*) sobre *Cercospora apii* Fressen y el tizón temprano del celery (*Apium graveolens*). Obtenido de *Revista Científica UDO Agrícola*, 12(2), 472-478: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4688921>



48. Rodríguez Pedroso, A. T., Ramírez Arrebato, M. A., Baños, S. B., Cruz Triana, A., & Rivero González, D. (2012). Actividad antifúngica de extractos de *Acacia farnesiana* sobre el crecimiento in vitro de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*. Obtenido de *Revista Científica UDO Agrícola*, 12(1), 91-96: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4277990>
49. Rodríguez, C. F. (s.f.). *Sensitivas (genus Mimosa)*. Obtenido de Naturalista: [naturalista.biodiversidad.co/taxa/47450-Mimosa](http://naturalista.biodiversidad.co/taxa/47450-Mimosa)
50. Rodríguez, D., & Montilla, J. (2002). *Disminución de la marchitez causada por Fusarium en tomate con extracto de Citrus paradisi*. Obtenido de <http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/6062/A2100e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
51. Rodríguez, T., Ramírez, M., Bautista, S., Cruz, A., & Rivero, D. (2012). *Actividad antifúngica de extractos de Acacia farnesiana sobre el crecimiento in vitro de Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*. Obtenido de *Revista científica UDO Agrícola*: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4277990>
52. Roy, K. W. (1997). *Fusarium solani* on soybean roots: Nomenclature of the causal agent of sudden death syndrome and identity and relevance of *F. solani* form B. *Mississippi Agricultural and Forestry Experiment Station*, 259-266.
53. Sabando Varela, M. C. (2015). *Aplicación de los aceites esenciales Mentha spicata (Hierbabuena) y Matricaria chamomilla (Manzanilla) en la inhibición de hongos en dos variedades de tomate*. (Tesis Agroind.). Obtenido de Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Agroindustria: Ecuador: <http://mail.uteq.edu.ec/bitstream/43000/622/1/T-UTEQ-0051.pdf>
54. Salazar, L., Diamont, D., & Aponte, G. (2015). Identificación del agente causal de la marchitez de *Stevia rebaudiana* Bertoni en muestras provenientes del estado Aragua, Venezuela. Obtenido de *Bioagro*, 27(1), 57-61: <http://www.scielo.org.ve/pdf/ba/v27n1/art08.pdf>

55. Santana Mayorga, R. C. (2014). *Evaluación de métodos de extracción y dosis de aplicación de cola de caballo (Equisetum arvense) para el control ecológico de roya (Puccinia sp.) en el cultivo de cebolla blanca (Allium fistulosum)*. (Tesis Mg. Sc. Agroecol. y Amb.). Obtenido de Universidad Técnica de Ambaro, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Maestría en Agroecología y Ambiente: <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/7557/1/tesis-019%20Maestr%C3%ADa%20en%20Agroecolog%C3%ADa%20y%20Ambiente%20-%20CD%20240.pdf>
56. Sepúlveda, G., Porta, H., & Rocha, M. (2003). *La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas*. Obtenido de Revista Mexicana de Fitopatología, 21(3), 355-363, <http://www.redalyc.org/html/612/61221317/>
57. Schuster, J. (2016). *Cercospora*. Obtenido de Universidad de Illinois en Urbana-Champaign, Extensión de la Universidad de Illinois, Enfoque: Plantas y Enfermedades: [http://extension.illinois.edu/focus\\_sp/cercosporabligh.cfm](http://extension.illinois.edu/focus_sp/cercosporabligh.cfm)
58. Schwan-Estrada, K. R. F., Stangarlin, J. R., & Cruz, M. E. Da S. (2000). Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. *Floresta* 30(1/2), 129-137: <http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs/index.php/floresta/article/view/2361/1973>
59. Templeton, G. E., Smith, R. J., & Tebeest, D. O. (1989). Perspectives on Mycoherbicides Two Decades After Discovery of The Collego, Pathogen. *Symposium de biología*, 553. Obtenido de [http://bugwoodcloud.org/ibiocontrol/proceedings/pdf/7\\_553-558.PDF](http://bugwoodcloud.org/ibiocontrol/proceedings/pdf/7_553-558.PDF)
60. Tomato Dirt. (2017). *Tomato diseases: How to identify and treat Fusarium wilt*. Obtenido de Tomato Dirt: <http://www.tomatodirt.com/fusarium-wilt.html>
61. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala (USAC). (2016). *USAC*. Obtenido de USAC: <https://www.usac.edu.gt/>
62. Vásquez Ponce, P. X. (2013). *Caracterización y uso del extracto de albahaca como fungicida en bienes patrimoniales maderosos de Quito D.M.* (Tesis Lic. Quim.

Aliment.). Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas, Carrera de Química de Alimentos: Ecuador. Obtenido de <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/4552/1/Tesis%20pregrado%20T-UCE-0008-20.pdf>

63. Verzignassi, J. R., Vida, J. B., & Homechin, M. (1997). Ocorrencia e transmissao de *Alternaria steviae* em sementes de *Stevia rebaudiana* Bertoni. Obtenido de *Revista Brasileira de Sementes, Brasília*, 19(2), 283- 287: DOI: <http://dx.doi.org/10.17801/0101-3122/rbs.v19n2p283-287>
  
64. Villa, A., Pérez, R., Morales, A., Basurto, M., Soto, J., & Martínez, E. (2014). Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. Obtenido de *Acta Agronómica*, 64(2), 194-205: [https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta\\_agronomica/article/view/43358/50649](https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/43358/50649)
  
65. Waller, J., Lenné, J., & Waller, S. J. (2001). *Plant pathologist's pocketbook*. Wallingford, Oxon: CABI Publishing. Obtenido de [http://www.agrifs.ir/sites/default/files/Plant%20Pathologists%27%20Pocketbook%20%7BJ%20M%20Waller%7D%20%5B9780851994598%5D%20%28CABI%20-%202001%29\\_0.pdf](http://www.agrifs.ir/sites/default/files/Plant%20Pathologists%27%20Pocketbook%20%7BJ%20M%20Waller%7D%20%5B9780851994598%5D%20%28CABI%20-%202001%29_0.pdf)
  
66. Wesseling, C., Aragón, A., Castillo, L., Corriols, M., Chaverri, F., De la Cruz, E., & Wendel, B. (2003). Consideraciones sobre plaguicidas peligrosos en América Central. Obtenido de *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*, 68, 7-18: <http://www.bio-nica.info/biblioteca/Wesseling2003PlaguicidasPeligrosos.pdf>
  
67. Zavaleta Mejía, E. (1999). Alternativas de manejo de las enfermedades de las plantas. Obtenido de *Terra*, 17(3), 201-207: <https://www.chapingo.mx/terra/contenido/17/3/art201-207.pdf>

## 2.11 ANEXOS

### 2.11.1 Prueba de mejor solvente



Fuente: Sheila Méndez, 2016.

Figura 35A. Secado de material vegetal.

Cuadro 19. Porcentaje de humedad de las plantas utilizadas para los extractos.

<b>Especie</b>	<b>% humedad</b>
<i>Ocimum micranthun</i>	9.25
<i>M. ursina</i>	9.41
<i>A. farnesiana</i>	6.65
Fuente: Sheila Méndez, 2016.	



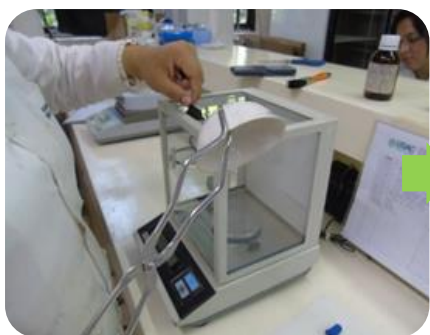
Fuente: Sheila Méndez, 2016.

Figura 36A. Prueba de mejor solvente.



Fuente: Sheila Méndez, 2016.

Figura 37A. Obtención de la tintura del material vegetal.



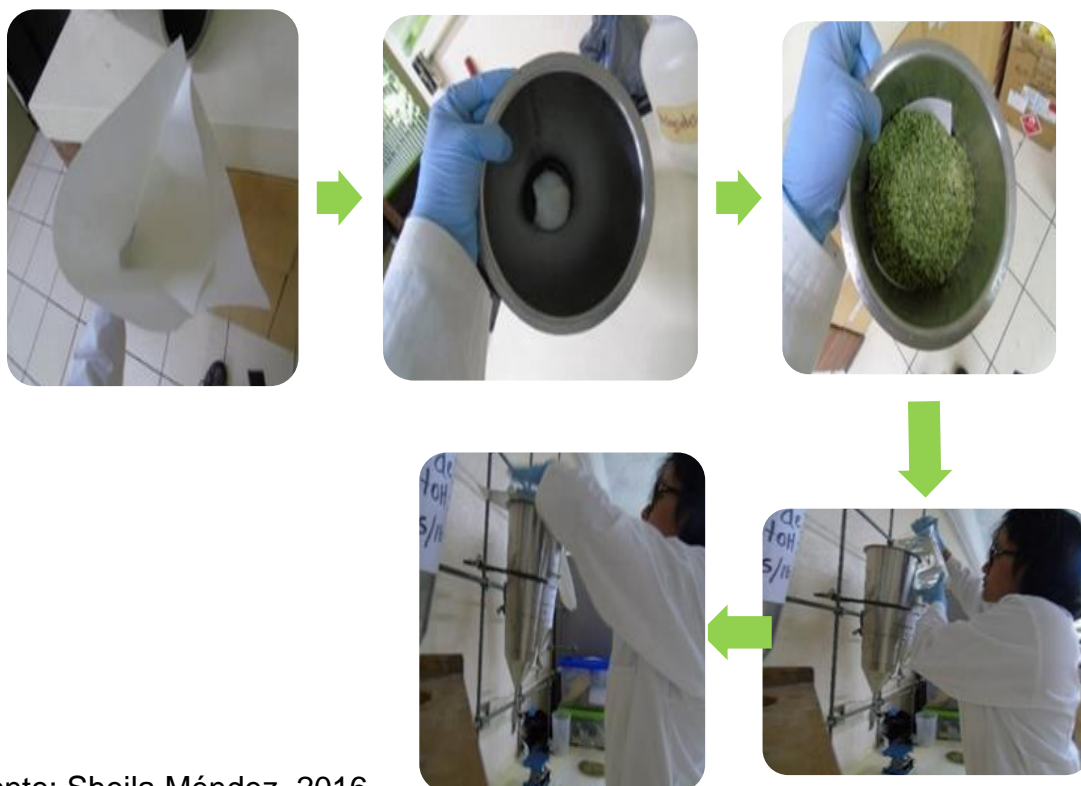
Peso del crisol



Evaporación del solvente.



Fuente: Sheila Méndez, 2016.  
Figura 38A. Secado y tara de los crisoles.



Fuente: Sheila Méndez, 2016.

Figura 39A. Preparación del percolador para obtención de tintura.



Fuente: Sheila Méndez, 2016.

Figura 40A. Utilización del rotavapor para la obtención del extracto seco.

### 2.11.2 Aislamiento de *Fusarium oxysporum*.



Fuente: Tomato Dirt, 2017.  
Figura 41A. Sintomatología de *F. oxysporum* en plantas de tomate.



Fuente: Sheila Méndez, 2016.  
Figura 42A. Tren de desinfección.





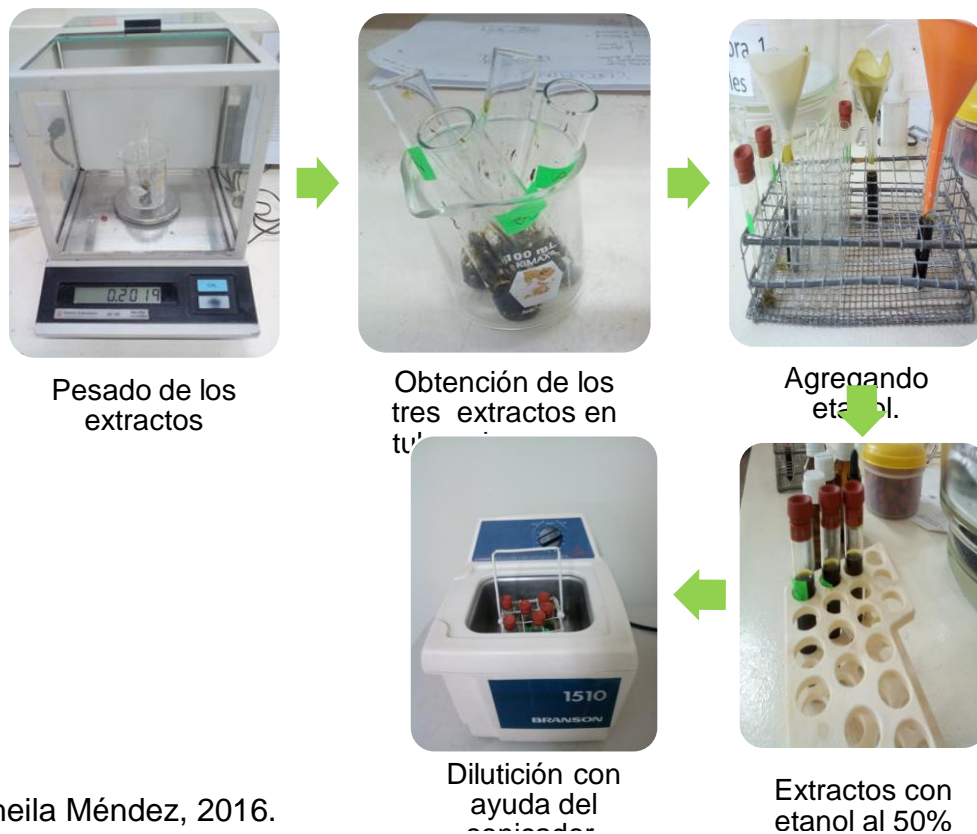
Figura 43A. Identificación de *F. Oxysporum*.

### 2.11.3 Tamizaje fitoquímico de extractos y evaluación de extractos



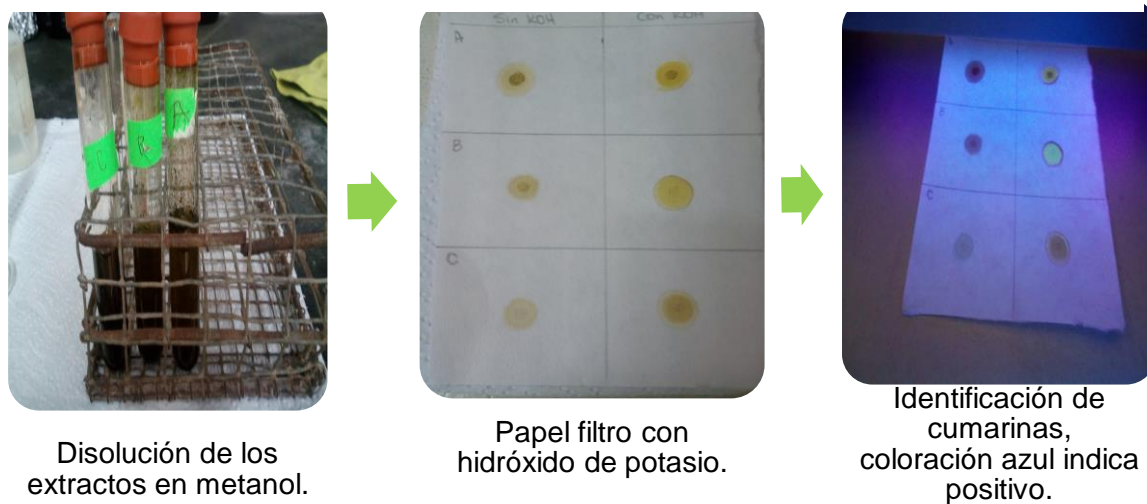
Fuente: Sheila Méndez, 2016.

Figura 44A. Extractos en seco.



Fuente: Sheila Méndez, 2016.

Figura 45A. Proceso de obtención de extractos diluidos en etanol al 50% para la identificación de metabolitos secundarios.



Fuente: Sheila Méndez, 2016.

Figura 46A. Identificación macro de cumarinas.



Fuente: Sheila Méndez, 2016.

Figura 47A. Identificación micro de cumarinas.

**2.11.4 Análisis de varianza**

Gráfico de medias en un análisis completamente al azar

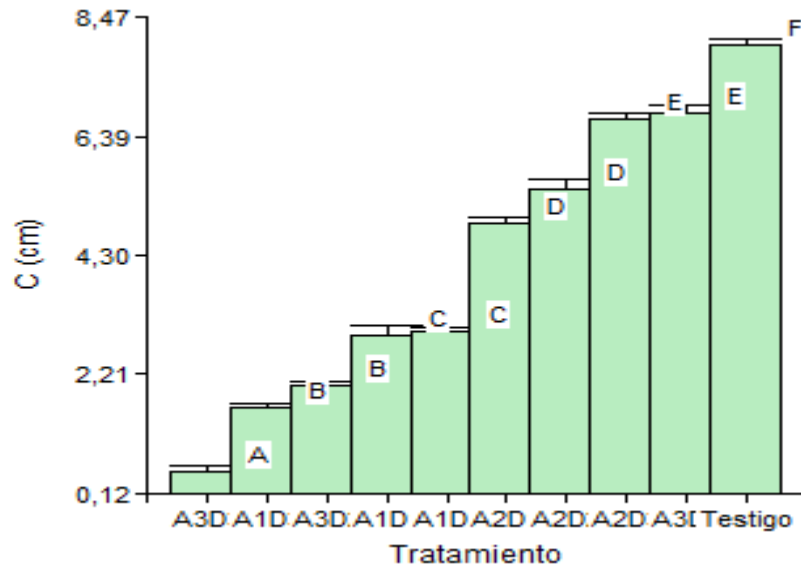


Figura 48A. Gráfica de medias con el grupo Fisher.

Pruebas para comprobar los supuestos del análisis de varianza de los tratamientos.

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p (Unilateral D)
RDUO C (cm)	24	-6,9E-04	0,13	0,94	0,4610

Figura 49A. Resultados de prueba de Shapiro Wilks, para el ANDEVA de los tratamientos.

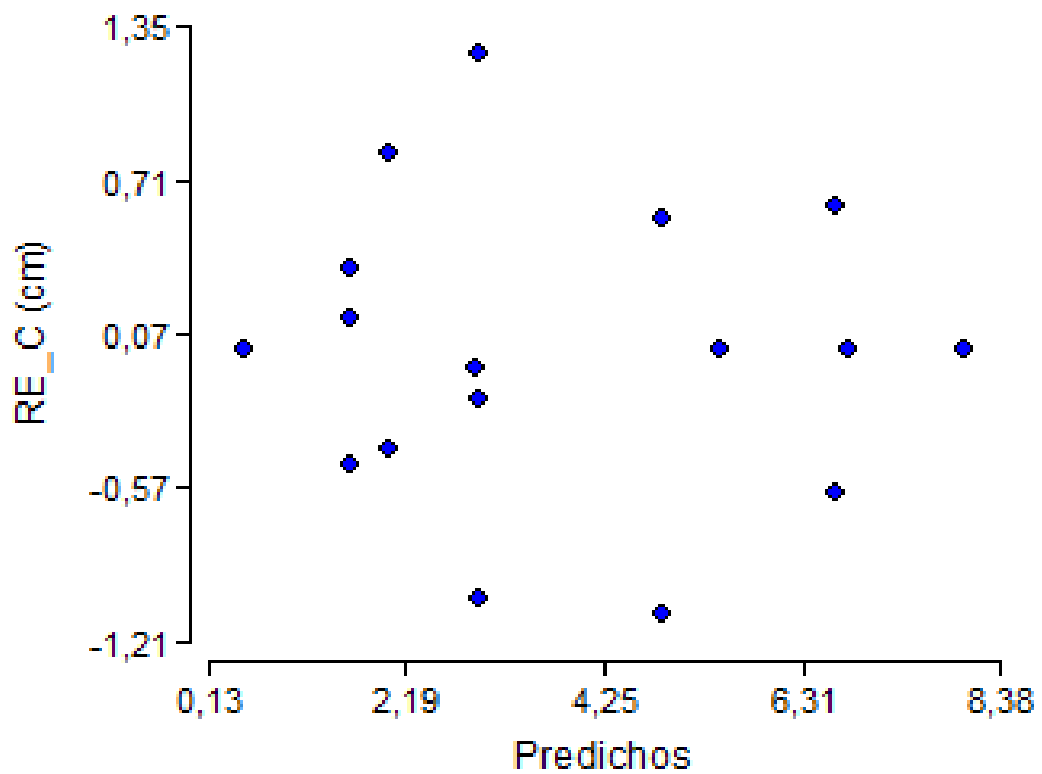


Figura 50A. Gráfica de predichos contra residuos.

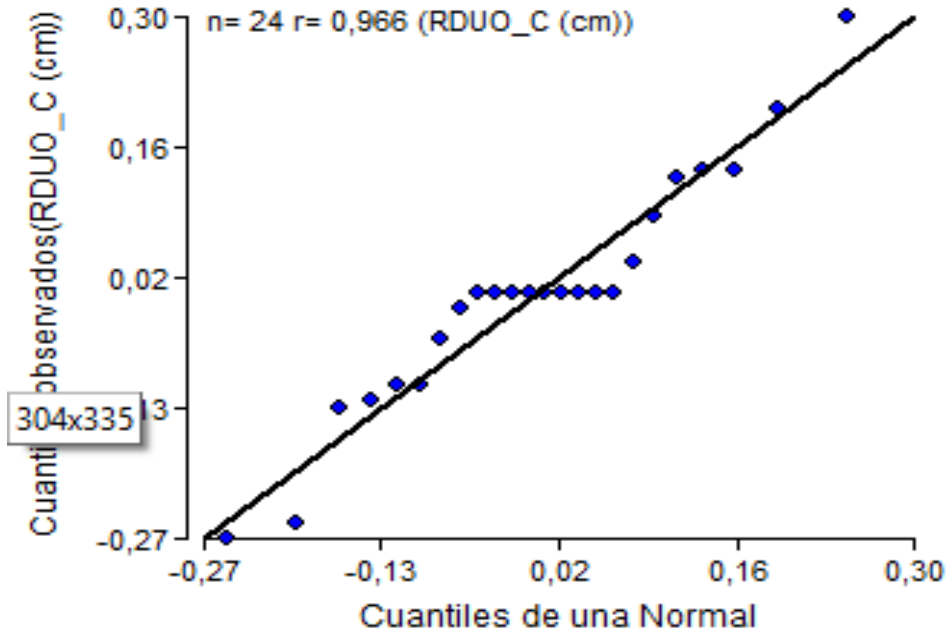


Figura 51A. Gráfica de QQ-Plot.

Comprobación de supuestos para el análisis de varianza del diseño factorial.

Gráfico de medias.

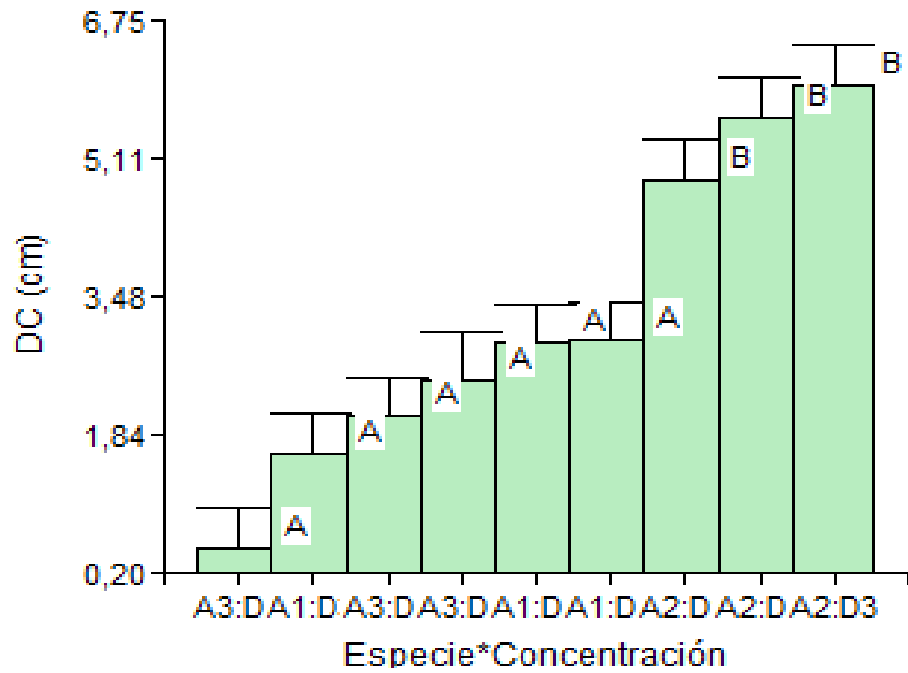


Figura 52A. Gráfico de medias del crecimiento con base a la interacción.

Prueba de Shapiro-Wilks

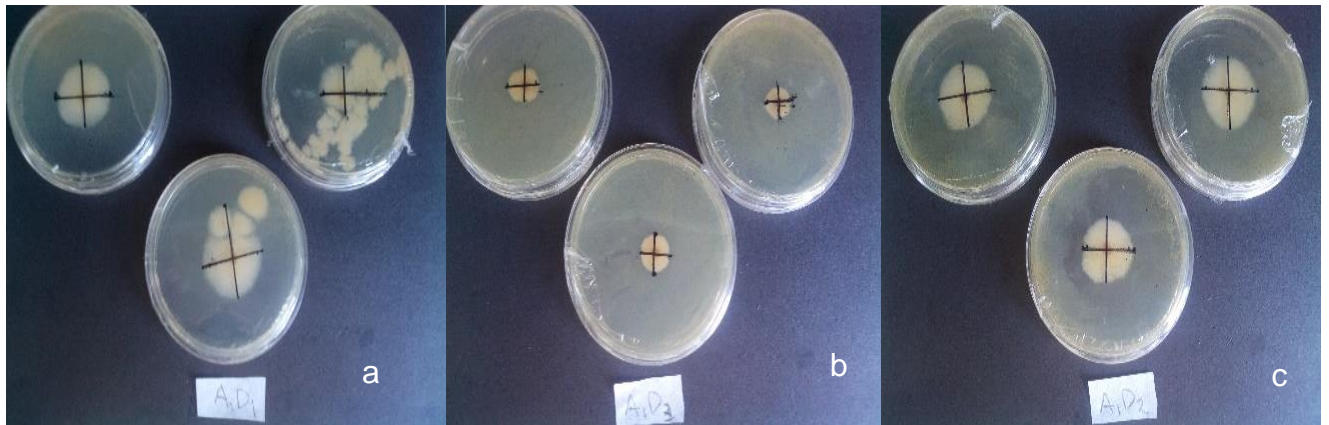
**Shapiro-Wilks (modificado)**

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO DC (cm)	26	0,00	0,66	0,92	0,1442

Figura 53A. Prueba de Shapiro-Wilks para el ANDEVA del arreglo factorial.

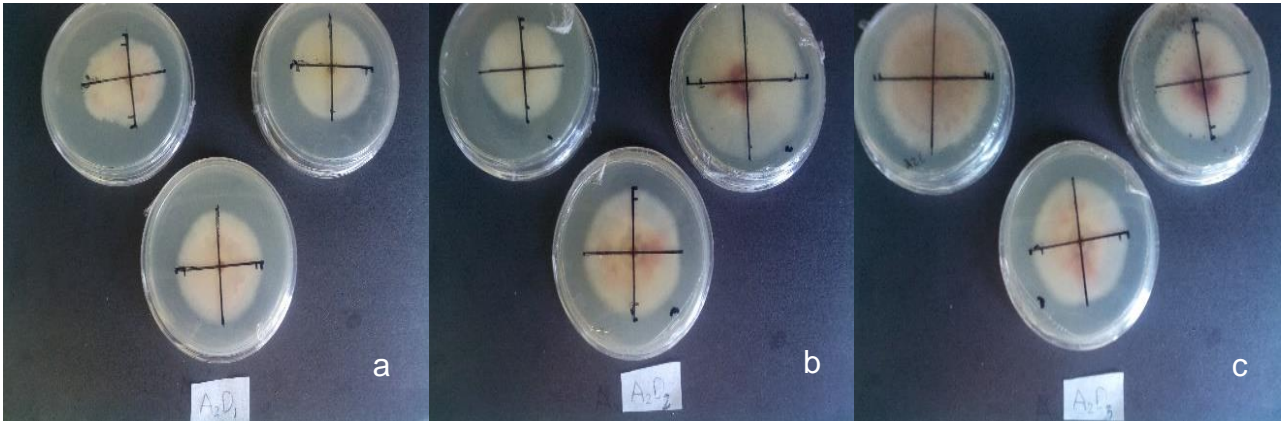
**2.11.5 Resultados finales de colonización del hongo *Fusarium oxysporum***

Las figuras que se presentan los resultados finales de la colonización de *Fusarium* en cada uno de los tratamientos.



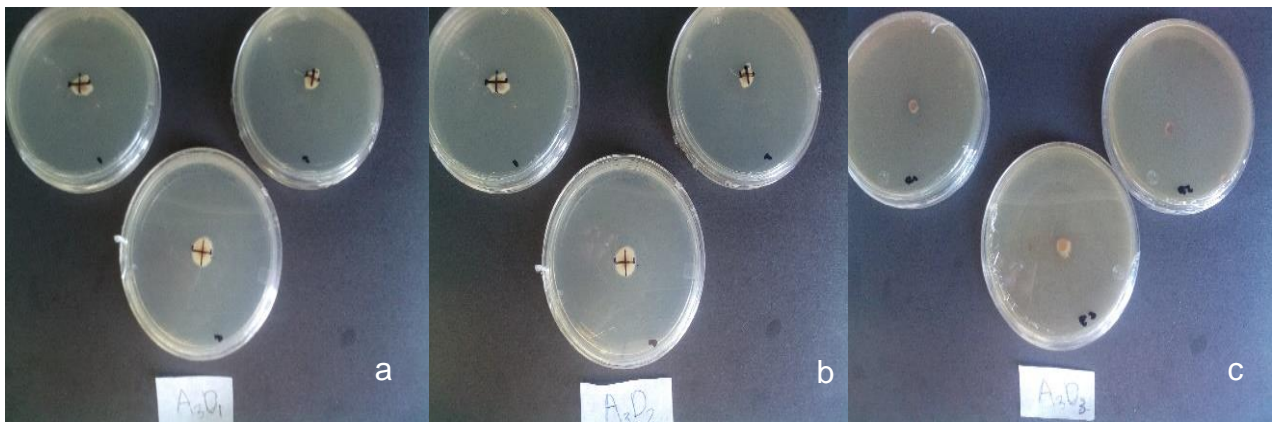
Fuente: Sheila Méndez, 2018.

Figura 54A. Crecimiento de las colonias de *F. oxysporum* en cajas petri con extractos de *Mimosa ursina* a diferentes concentraciones a) 0.005 g/mL. b) 0.01 g/mL c) 0.015 g/mL.



Fuente: Sheila Méndez, 2018.

Figura 55. Crecimiento de las colonias de *F. oxysporum* en cajas petri con extractos de *A. farnesiana* a diferentes concentraciones a) 0.005 g/mL. b) 0.01 g/mL. c) 0.015 g/mL.



Fuente: Sheila Méndez, 2018.

Figura 56. Crecimiento de las colonias de *F. oxysporum* en cajas petri con extractos de *O. micrantum* a diferentes concentraciones a) 0.005 g/mL. b) 0.01 g/mL. c) 0.015 g/mL.





### 3.1 PRESENTACIÓN

Los servicios prestados en la finca Buenos aires fueron definidos a través de las demandas que la empresa tenía, se procedió a la identificación de las plantas arvenses que se encontraban dentro del área de producción, colectando muestras vegetales y llevándolas al laboratorio de botánica donde se lograron identificar 22 especies, lo cual ayudo a identificar las plantas que se utilizarían para la investigación principal.

Se logró definir una metodología para la toma de muestras de agua con fines de riego en el cual se definen los pasos para obtener una muestra representativa, sin embargo, como la empresa lo clasifico como un SOP (standard operating procedure) este sujeto a cambios para mejora.

También definió una metodología para la toma de muestras foliares en el cual se detalla paso a paso como se debe tomar una muestra representativa, para la obtención de esta serio de paso se consultó y recopilo literatura relacionada con ello, por el resultado es una compilación de lo que otros autores han definido y que se podía ajustar al tipo de cultivo, que fue considerado como un SOP, sujeto a cambios de mejora.

De tal manera, se definieron tres servicios realizados y en este documento se detallan los objetivos, metodología y resultados de cada uno de ellos.

## **3.2 SERVICIOS PRESTADOS**

### **3.2.1 Identificación de especies vegetales de la finca “Buenos Aires”**



#### **3.2.1.1 Objetivos**


- Conocer y obtener una descripción de algunas especies de plantas presentes en la Finca “Buenos aires”.
- Determinar es uso potencial de las plantas presentes en la Finca “Buenos aires”.



#### **3.2.1.2 Metodología**



- a) Las plantas se colectaron en ambientes silvestres en un área de 14 has aproximadamente de la finca Buenos Aires en la aldea El Pinalito, San Pedro Pínula, Jalapa, en época lluviosa (mayo-octubre).
- b) Dichas plantas colectadas se obtuvieron completas (raíz-tallo-flores), fueron colocadas en una prensa botánica.
- c) Se trasladaron al laboratorio de botánica de la Facultad de Agronomía, en donde con ayuda del Ing. Agr. Mendieta, se procedieron a clasificar, haciendo uso de un estereomicroscopio, agujas de disección, y la flora de Guatemala.



### 3.2.1.3 Resultados de identificación de especies vegetales, en la finca “Buenos Aires”



Clasificación taxinómica	Descripción	Distribución	Usos	Ejemplar
<p>Subclase: Asteridae Orden: Asterales</p> <p>Familia: Asteraceae Genero: Spilanthes Especie: ocymifolia <i>Spilanthes ocymifolia</i></p>	<p>Hierba anual de menos de 1 m de alto.</p> <p>Las hojas son pecioladas, ovadas, agudas con una base decurrente al pecíolo.</p> <p>Los márgenes pueden ser enteros o aserrados.</p> <p>Las flores están en cabezuelas y son blancas y diminutas.</p>	<p>De México a Sur América.</p> <p>En Guatemala se encuentra de 0-1900 msnm</p>	<p>Esta planta se ha usado desde los mayas como anestésico local, especialmente para trabajos en la boca. Un pedazo de la planta puede adormecer la boca en pocos minutos. Conocida también por <i>Acmella ocymifolia</i> (A, 2007).</p>	
<p>Subclase: Dillenidae Orden: Malvales Familia: Malvaceae Genero: Sida Especie: rhombifolia <i>Sida rhombifolia</i></p>	<p>El género <i>Sida</i> se distingue por carecer del cálculo que tienen muchas Malvaceae (se trata de unas hojitas externas al cáliz), tener frutos relativamente planos (como rueda) y no inflados, de 5-14 frutitos parciales (carpidios), cada uno con una semilla. Son</p>	<p>De México a Sur América. De los 800 a 2000 msnm.</p>	<p>Producen extractos acuosos son prácticamente no tóxicos (CL50 &gt;1000 ppm), lo cual sugiere que su uso en forma de infusión es seguro. Los extractos etanólicos y las fracciones de acetato de etilo y cloroformo presentaron actividad antimicrobiana frente a</p>	

	<p>hierbas o arbustos con flores amarillas, a veces blancas, y un cáliz con diez costillas en la base. La especie <i>Sida rhombifolia</i> se reconoce por tener hojas aserrados sólo en la parte superior.</p>		<p><i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> que puede ser atribuida a los metabolitos secundarios (terpenoides, flavonoides) que están presentes en esta especie (Brugés &amp; Roguero, 2007).</p>	
<p>Subclase: Asteridae          Orden: Asterales          Familia: Asteraceae          Genero: Ageratum          Especie: conyzoides  <i>Ageratum conyzoides</i></p>	<p>Descripción Hierba perenne 1 m de alto. Los tallos son peludos. Las hojas son opuestas, gruesas y firmes. Miden de 4-10 cm largo y son lanceoladas, rómbicas. Las flores están en cabezuelas y son de color morado pálido o lavanda.</p>	<p>Guatemala y México. En Guatemala se encuentra en bosques de 1000-2500 msnm.</p>	<p>Uso de las fitoalexinas como controlador de hongos fitopatógenos (Schwam, Stangarlin, &amp; Silva, 2000).</p>	



<p>Subclase: Asteridae          Orden: Asterales          Familia: Asteraceae          Genero: Baltimora          Especie: recta  <i>Baltimora recta</i></p>	<p>Planta anual erecta. Flores en cabezuelas amarillas, solitarias con cinco petalos aparentes. Hojas opuestas, con margenes cerrados y de forma ovalada.</p>	<p>Mesoamérica</p>	<p>Arvense</p>	
<p>Subclase: Asteridae          Orden: Asterales          Familia: Asteraceae          Genero: Emilia          Especie: fosbergii  <i>Emilia fosbergii</i></p>	<p>hierbas anuales con látex, las flores rojizas a lilas con sólo flores tubulares, el involucro en una sola serie de brácteas de igual tamaño sin brácteas exteriores (calículo), los frutos con un vilano de cerdas capilares, las hojas abrazadoras y alternas</p>	<p>Sur de E.U.A. (Florida, Luisiana, Texas, California, Hawaii), México, Antillas, América Central y América del Sur (<a href="#">Barkley, 1984</a>). Actualmente es una maleza pantropical (Rojas &amp; Vibrans, Emilia fosbergii Nicolson, 2011).</p>	<p>Se reporta uso para el control de <i>Spodoptera frugiperda</i> (Sabillon &amp; Bustamante, 1995).  También se considera como indicadora de fertilidad en suelos donde se siembra maíz, esta planta crece mejor en suelos con menor concentración de fósforo (Zaconeta, 2000).</p>	



<p>Orden: Commelinales</p> <p>Familia: Commelinaceae</p> <p>Genero: Commelina</p> <p>Especie: spp.</p> <p><i>Commelina spp.</i></p>	<p>Se reconoce por la combinación de dos pétalos azules (raramente lilas o blancos) con uno pequeño blanco, y la envoltura de las flores ("quesadilla") con el borde parcialmente fusionado.</p>	<p>América tropical y subtropical (Mandragón &amp; Vibrans, 2009).</p>	<p>Arvense (Gama, Adams, Martínez, &amp; Laguna, 2000)</p>	
<p>Orden: Convolvulales</p> <p>Familia: Convolvulaceae</p> <p>Genero: Convolvulus</p> <p>Especie: sativus</p> <p><i>Convolvulus sativus</i></p>	<p>Planta rastrera o trepadora, con pocos pelos o sin ellos, de hasta un metro de alto. Hieba perenne con pubescencia o sin esta, hojas oblongas.</p>	<p>Baja california america central.</p> <p>Originaria de Europa.</p>	<p>En el territorio valenciano se emplea como astringente, antiinflamatoria, antiséptica, anticatarral, vulneraria, hemostática, revulsiva y detoxicante. No tiene uso farmacéutico. La raíz contiene resina, almidón y azúcares. La parte aérea, taninos, glucósidos y resina (Fresquet, y otros, 2001).</p>	


<p>Subclase: Asteridae          Orden: Lamiales          Familia: Lamiaceae          Genero: Ocimum          Especie: micranthum  <i>Ocimum micranthum</i>          Wild.</p>	<p>El albahaca domesticado, se distingue por tener flores más grandes y sésiles o casi sésiles.</p>	<p>Las Antillas, México, a Centro- y Sudamérica, Islas Galápagos.</p>	<p>Usos medicinales y Fungicidas uso en <i>Fusarium oxisporum</i> (Nieto, 2012)</p> <p>Insecticidad, específicamente para <i>Musa domestica</i> (Murillo, Montealegre, Villanueva, Alcocer, &amp; Cardona, 2002)</p> <p>Control de <i>Tribolium casteanum</i> bajo condiciones de laoratorio (Ruiz, 2013).</p> <p>Control de <i>Cercospora</i></p>	
<p>Subclase: Dillenidae          Orden: Malvales          Familia: Malvaceae          Genero: Sida          Especie: rhombifolia  <i>Sida rhombifolia</i></p>	<p>Tener frutos relativamente planos (como rueda) y no inflados, de 5-14 frutitos parciales (carpidios), cada uno con una semilla. Son hierbas o arbustos con flores amarillas, a veces blancas, y un cáliz con diez costillas en la base .</p>	<p>Guatemala desde hasta 1800 msnm</p>	<p>Uso como fungicida para <i>Micosphaerella fijiensis</i> Morelet in vitro (Niño, Correa, &amp; Mosquera, 2007).</p> <p>Arvense</p>	


<p>Subclase: Rosidae                  Orden: Fabales                  Familia: Mimosacea                  Genero: Mimosa                  Especie: pudica  <i>Mimosa pudica</i></p>	<p>Alternas, compuestas (parecen de 15 a 25 pares de hojillas.                  Las flores densamente agrupadas, formando grupos globosos llamados cabezuelas.</p>	<p>Suroccidente de Guatemala.</p>	<p>Se ha reportado su uso para control de <i>Aspergillus ochraceus</i> en café (<i>Coffea arabica</i> L.) (Pouza, Chalfoun, Oliveira, &amp; Santos Botelho, 2011)</p>	
<p>Subclase: Rosidae                  Orden: Solanales                  Familia: Solanaceae                  Género: Solanum                  Especie: linnaeanum  <i>Solanum linnaeanum</i></p>	<p>Arbusto cubierto de pelos estrellados, armado de espinas dispersas rectas o algunas recurvadas; hojas escasamente lobadas, cubiertas con pelos estrellados; flores moradas, los pedicelos cubiertos de pelos estrellados que en el centro presentan una glándula; anteras más o menos iguales, más angostas hacia el ápice; frutos globosos, amarillos, sin pelillos, no cubiertos por el cáliz.</p>	<p>Oriente de Guatemala, reconocida como planta invasiva.</p>	<p>Actividad antifúngica de extractos de <i>Solanum torvum</i> sobre <i>Colletotrichum musae</i> (Celoto, Papa, &amp; Sacramento, 2011; Armiñana, Sánchez, Reig, &amp; Vicente, 1984).                  Arvense</p>	





<p>Subclase: Rosidae                  Orden: Solanales                  Familia: Solanaceae                  Género: Solanum                  Especie: nigrum  <i>Solanum nigrum</i></p>	<p>Los lóbulos del cáliz son más o menos pegados al fruto en la madurez y sus anteras son de 2-4 mm de largo</p>	<p>Se encuentra reportado desde los</p>	<p>Planta reportada para el control de <i>Botrytis cinerea</i> en el cultivo de rosas (Fiallos, 2011).                   Se ha reportado para el control de <i>Aspergillus niger</i> in vitro (Armiñana, Sánchez, Reig, &amp; Vicente, 1984)</p>	
<p>Subclase: Asteridae                  Orden: Solanales                  Familia: Solanaceae                  Género: Physalis                  Especie: philadelphica  <i>Physalis philadelphica</i></p>	<p>Planta herbácea erecta y ramificada, sin pelos o en ocasiones con pelos esparcidos</p>	<p>Se encuentra en zonas de vida de bosque humedo altitudies entre 1200 a 1500 msnm</p>	<p>Se reporta uso para el control de <i>Fusarium oxisporum</i> (Osorio, 2014)</p>	


<p>Subclase: Orden: Sterculiales Familia: Sterculiaceae Género: Waltheria Especie: americana <i>Waltheria americana</i></p>	<p>cápsulas son diminutas .</p>	<p>De México a Panamá de 0 a 2000 msnm (Macvean, s.f.)</p>	<p>Medicinal (Loaiza, 2014) Arvense</p>	
<p>Subclase: Rosidae Orden: Fabales Familia: Mimosaceae Género: Acacia Especie: farnesiana <i>Acacia farnesiana</i>.</p>	<p>Arbusto espinoso o árbol pequeño, perennifolio o subcaducifolio, de 1 a 2 m de altura la forma arbustiva y de 3 a 10 m la forma arbórea, con un diámetro a la altura del pecho de hasta 40 cm (CONABIO).</p>	<p>Originaria de América tropical. Esta presente desde el sur de Estados Unidos, pasando por México y Centroamérica hasta Argentina y Chile. Altitud de 36 a 2500 msnm.</p>	<p>Se reporta para el control de <i>Fusarium oxisporum</i> f. sp. lycopersici (Rodríguez, Ramírez, &amp; Rivero, 2012)  Para el control en un 7% sobre la inhibición del crecimiento micelial de <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn (Hernández, 2015)</p>	

<p>Subclase: Magnoliidae Orden: Papaverales Familia: Papaveraceae Género: Argemone Especie: mexicana <i>Argemone mexicana</i></p>	<p>Herbácea erecta. De 1 m o menos de alto. Con tallo verdeazulado y sin pelos, con numerosas espinas firmes y punzantes. Hojas sésiles, alternas, moteadas, lanceoladas o elípticas y transversalmente lobuladas, botón no mucho más largo que ancho, flores solitarias fruto es una cápsula con espinas; semillas redondas y negras (Mondragón, Vibrans, &amp; Tenorio, Ficha informativa, Argemone mexicana, 2009).</p>	<p>Se encuentra distribuida desde Estados Unidos hasta Perú y Paraguay. Desde los 250 hasta 1350 msnm.</p>	<p>Muestra efecto sobre la atracción de gorgojos del arroz <i>Sitophilus oryzae</i> (García, 2005)  Se reporta en la reducción de daño en amaranto (<i>Amaranthus hypocondriacus</i> L.) en combinación de higuierilla (<i>Ricinus comunis</i>) y <i>Bauveria bassiana</i> (Vásquez, y otros, 2016)</p>	 <p>Tenorio, 2009</p>
---	--	--	---	--


<p>Subclase: Asteriidae          Orden: Lamiales          Familia: Boraginaceae</p> <p>Género: Heliotropium</p> <p>Especie:          angiospermum</p> <p><i>Heliotropium          angiospermum</i> Murray</p>	<p>Hierba o subarbusto, anual o perenne, erecto, de 15 a 80 cm de alto, ocasionalmente hasta 2 m.</p> <p>verde pálido, moderada a escasamente pubescente (con pelos), las hojas son alternas o algunas opuestas, pecioladas, ovadas (con forma de huevo), elípticas a lanceoladas. Flores en cima helicoidal (en forma de caracol, enroscado, con flores hacia un lado), solitaria o en pares (Rojas,</p>	<p>Se distribuye bosques tropicales caducifolios y perennifolios, dunas costeras, manglar. Hasta los 1900 msnm.</p>	<p>Uso medicinal para fiebre, gripe, llagas en el cuerpo (Latres, y otros, 2015)</p>	 <p>Lezama, 2011</p>
---	---	---	--	---

	Vibrans, & Lezama, 2011).			
<p>Subclase: Rosidae Orden: Sapindales Familia: Rutaceae Género: Ruta Especie: graveolens <i>Ruta graveolens</i></p>	<p>La ruda es una interesante especie desde el punto de vista medicinal. Se trata de una planta perenne con un tallo que engrosa. Las flores son de color amarillo alimonado y forman vistosos ramilletes terminales. El fruto es una cápsula que contiene numerosas semillas negras. Toda la planta despide un desagradable olor, lo que la hace inconfundible (Aleja, 2011).</p>	<p>Se encuentra destrubuida desde los 50 hasta 2750 msnm.</p>	<p>Utilizado para el control de <i>Tribolium castaneum</i> de hasta 86% (Ruiz, 2013)</p> <p>Control de <i>Botrytis cinerea</i> en mora de castilla (<i>Rubus glaucus</i> Beth) (Jiménez, 2013).</p> <p>Inhibe el crecimiento de micelio y esporulación de <i>Trichoderma aggressivum</i> (Reyes, y otros, 2014)</p> <p>Se reportan estudios en la utilización de <i>Ruta graveolens</i>, para el control de <i>Meloidogyne</i> en un 87,5% (Quevedo, Crozzoli, &amp; Perichi, 2010)</p>	

<p>Subclase: Asteridae          Orden: Lamiales          Familia: Lamiaceae          Género: Rosmarinus          Especie: officinalis  <i>Rosmarinus officinalis</i></p>	<p>El romero es un arbusto leñoso de hojas perennes, de hasta 2 m de altura; lo encontramos de color verde, las flores son de unos 5 mm de largo, el color es azul violeta pálido, rosa o blanco, con cáliz verde o algo rojizo, Son flores axilares, muy aromáticas y melíferas, el fruto, está formado por cuatro pequeñas nuececitas trasovadas, de color parduzco.</p>	<p>Se encuentra distribuida desde en el mediterraneo .</p>	<p>Muestra un efecto inhibitorio de <i>Alternaria solani</i> y <i>Aspergillus flavus</i> (Gómez, 2012)</p> <p>La efectividad del extracto foliar de <i>Rosmarinus officinalis</i> en la reducción de la germinación de zoosporas de <i>Phytophthora spp.</i> (Gutiérrez, 2015)</p>	
--	--	--	--	---

<p>Subclase: Asteridae                  Orden: Chenopodiales                  Familia:                  Chenopodiaceae                  Género: <i>Teloxys</i>                  Especie: ambrosioides  <i>Teloxys ambrosioides</i>                  (L)</p>	<p>Planta erguida o ascendente, glandulosa.  <b>De 40 a 1 m de alto.</b>                  Tallo simple o ramificado.                  Hojas Pecioladas, oblongas a lanceoladas, de 3 a 10 cm de largo por 1 a 5 de ancho, gradualmente</p>	<p>Baja California Sur, hasta centro América.                  Hasta los 3000 msnm.</p>	<p>Inhibición del crecimiento de <i>Phytophthora</i> spp. (Villa, y otros, 2015)</p>	
---	--	---	--	---

	<p>reducidas hacia la parte superior, subenteras o sinuadodentadas.                  inflorescencia en forma de espiga con numerosas flores, dispuestas en panícula piramidal (Mondragón, Vibrans, &amp; Lezama, 2004).</p>			
--	---	--	--	--

<p>Subclase: Asteridae          Orden: Asterales          Familia: Asteridae</p> <p>Género: Matricaria          Especie: chamomilla  <i>Matricaria chamomilla</i>          L.</p>	<p>Hierba anual, a veces persistiendo por más tiempo, glabra o casi glabra.</p> <p>Hojas Alternas, de 5 a 7 cm de largo, finamente 2 a 3 veces pinnado divididas (bi a tripinnatisectas).</p> <p>Inflorescencia          Compuesta de cabezuelas solitarias a agrupadas por varias en el extremo de las ramas, a veces numerosas, sobre pedúnculos hasta de 10 cm de largo (Hanan, Mondragón, Vibrans, &amp; Lezama, <i>Matricaria recutita</i> L, 2005).</p>	<p>México, Centro América, desde los 2250 hasta los 2800 msnm .</p>	<p>Efecto sobre enfermedades del tomate (<i>Solanum sculentum</i> L.), <i>Alternaria</i> sp. (Sabando, 2015)</p>	
---	---	---	--	---



<p>Subclase: Asteridae          Orden: Lamiales          Familia: Lamiaceae          Género: Mentha          Especie:  <i>Mentha sp.</i></p>	<p>La <i>Mentha spicata</i> o hierbabuena es una planta muy utilizada por el hombre con fines medicinales, para aromatizar alimentos o para la fabricación de esencias.          De intenso y agradable aroma, sus tallos alcanzan entre los ochenta y los cien centímetros de altura de la hoja, con el contorno aserrado.</p>	<p>México, Guatemala de 2250 a 2350 msnm (Hanan, Mondragón, Vibrans, &amp; Lezama, Mentha X rotundifolia (L.) Huds., 2009).</p>	<p>Efecto sobre enfermedades del tomate (<i>Solanum sculentum</i> L.), <i>Alternaria</i> sp. (Sabando, 2015)</p>	
--	---	---	--	---

### 3.2.1.4 Evaluación

Se identificaron 24 especies de plantas arvenses en el laboratorio de botánica de la Facultad de Agronomía.

Con la ayuda de revisión bibliográfica se determinó el uso potencial de cada una de las plantas, encontrando propiedades medicinales para uso humano, control de plagas y enfermedades. Se recomienda ampliar el listado de otras plantas que no estén incluidas en este documento, así como también el estudio de extractos naturales que puedan utilizarse como alternativas para el control de plagas y enfermedades.

### 3.2.1.5 Bibliografía

1. Aleja. (2011). *Ruta graveolens*. Obtenido de rutagraveolensaleja.blogspot: <http://rutagraveolensaleja.blogspot.com/2011/02/clasificacion-de-la-ruda.html>
2. Brugés, K., & Roguero Reza, M. T. (2007). *Evaluación preliminar de toxicidad, genotoxicidad y actividad antimicrobiana de Sida rhombifolia L.* Obtenido de Revista Colombiana de Biotecnología, 9(1), 5-13: <http://www.redalyc.org/pdf/776/77690102.pdf>
3. Celoto, M., Papa, M., Sacramento, L., & Celoto, F. (2011). *Atividade antifúngica de extratos de Momordica charantia L. sobre Colletotrichum.* Obtenido de Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu, 13(3), 337-341: <http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v13n3/a13v13n3>
4. Comisión Nacional de Biodiversidad, México (CONABIO). (1806). *Acacia farnesiana*. Obtenido de Species Plantarum, Editio quarta 4(2), 1083-1084: [http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info\\_especies/arboles/doctos/38-legum4m.pdf](http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/38-legum4m.pdf)
5. Fiallos Montaldo, H. E. (2011). *Inhibición de Botrytis cinerea en rosas a base de extractos alcohólicos y acuoso de hierba mora Solanum nigrum. (Tesis Ing. Agr.)*. Obtenido de Universidad Politécnica Salesiana, Ingeniería

Agropecuaria: Cayambe, Quito, Ecuador:  
<http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/1828/14/UPS-YT00088.pdf>

6. Fresquet Freber, J. L., Blanque Roselló, G., Galindo Dobón, M., Gallego Estrada, F., De la Cuadra García Arizo, R., Bueno López, J. A., & Sanjosé Pí, A. (2001). *Inventario de las plantas medicinales de uso popular en la ciudad de Valencia*. Obtenido de Medicina y Ciencias Sociales, no. 13, 1-25: <http://www.uv.es/~fresquet/medciensoc/num2/inventario.PDF>
7. García, M. (2005). *Efecto de la atracción repelencia de extractos crudos de planta de distribución regional en Sitophilus orizae L.* Obtenido de <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/4213/T15096%20GARCIA%20MARTINEZ%2c%20MIGUEL%20ANGEL%20%20TESIS.pdf?sequence=1>
8. Gómez, F. (2012). *Estimación del efecto inhibitorio de Alternaria solani y Aspergillus favus con cinco extractos vegetales*. Obtenido de <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1504/ESTIMACION%20DEL%20EFECTO%20INHIBITORIO%20DE%20Alternaria%20solani%20y%20Aspergillus%20flavus%20CON%20CINCO%20EXTRACTOS%20VEGETALES.pdf?sequence=1>
9. Gutiérrez Pérez, L. R. (2015). *Estado del arte del efecto antifúngico de extractos vegetal para el control de Fusarium oxysporum. (Tesis Ing. Agrobiol.)*. Obtenido de Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, División de Agronomía, Departamento de Botánica: Coahuila, México: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/6511/63226%20GUTIERREZ%20PEREZ%2c%20LEONID%20ROBINSON%20%20T20369.pdf?sequence=1>
10. Hanan Alipi, A. M., Mondragón Pichardo, J., & Vibrans, H. (2005). *Matricaria recutita L.; Manzanilla*. Obtenido de México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) : <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/matricaria-recutita/fichas/ficha.htm>

11. Hanan, A., Mondragón, J., Vibrans, H., & Lezama, T. (s.f.). *Mentha X rotundifolia* (L.) Huds.; *Menta*. Obtenido de México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO): <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/lamiaceae/mentha-rotundifolia/fichas/ficha.htm>
12. Hernández Juárez, R. G. (2015). *Extractos vegetales para el control de hongo Rhizoctonia solani Kühn in vitro*. (Tesis Ing. Agr.). Obtenido de Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, División Carreras Agronómicas: México: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/6912/ExtractosvegetalesparaelcontroldelhongoRhizoctoniasolaniKuhn.pdf?sequence=1>
13. Jiménez, E. (2013). *Efectos de los extractos polares de Ruta graveolens, Nicotiana tabacum y Chrysanthemum morifolium sobre el hongo Botrytis cinerea de la mora de castilla (Rubus glaucus Benth)*. (Tesis Ing. Agr.). Obtenido de Universidad Tecnológica de Pereira, Facultad de Ciencias Agrarias y Agroindustria: Colombia: <http://recursosbiblioteca.utp.edu.co/dspace/handle/11059/3836>
14. Latres, M., Ruiz, T., Castro, M., Torrecilla, P. L., Hernández, L., & Muños, D. (2015). *Conocimiento y uso de plantas medicinales de la comunidad Valle de la Cruz, Estado Aragua*. Obtenido de Pittieria, 39, 59-89: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/40561/1/art3.pdf>
15. Loaiza Gutierrez, V. L. (2014). *Análisis del efecto antiviral de Waltheria americana L (Standley y steyermar) infectivo de rotavirus humano sobre células MA*. (Tesis MSc.). Obtenido de Universidad Autónoma NUEvo León, Facultad de Ciencias Biológicas: México: <http://eprints.uanl.mx/4454/1/1080253711.pdf>
16. MacVean, A. L. (2007). *Plantas Asteraceae*. Obtenido de Guatemala: Universidad Francisco Marroquín, Arboretum: <https://arboretum.ufm.edu/plantas/ageratum-corymbosum/>
17. Mondragón Pichardo, J., & Vibrans, H. (2009). *Commelina diffusa Burm. f*. Obtenido de México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad

(CONABIO):<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/commelinaceae/commelina-diffusa/fichas/ficha.htm>

18. Mondragón Pichardo, J., Vibrans, H., & Lezama, T. (2004). *Chenopodium ambrosioides* L. (= *Teloxys ambrosioides* (L.) W. A. Weber). Obtenido de México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO):<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/chenopodiaceae/chenopodium-ambrosioides/fichas/ficha.htm>
  
19. Mondragón Pichardo, J., Vibrans, H., & Tenorio, P. (2009). *Ficha informativa, Argemone mexicana*. Obtenido de México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO): <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/papaveraceae/argemone-mexicana/fichas/ficha.htm>
  
20. Murillo, E., Montealegre, M., Villanueva, D., Alcocer, M., & Cardona, M. (2002). *Potencial Insecticidad y repelente de la albahaca (Ocimum spp.) frente a la mosca casera*. Obtenido de [http://216.224.175.122:8080/bitstream/11554/2388/1/Induccion\\_de\\_resistencia\\_y\\_uso\\_de\\_tecnologias.pdf#page=64](http://216.224.175.122:8080/bitstream/11554/2388/1/Induccion_de_resistencia_y_uso_de_tecnologias.pdf#page=64)
  
21. Nieto Navarro, F. (2012). *Evaluación de la actividad antifúngica de plantas medicinales de Baja California sur contra Fusarium oxysporum en albahaca (Ocimum basilicum L.)*. (Tesis MSc. Desarrollo Agropec.). Obtenido de Universidad de Baja California Sur, Ciencias Agropecuarias: USA: <http://biblio.uabcs.mx/tesis/TE2821.pdf>
  
22. Niño, J., Ospina, J., Correa, J., & Mosquera, O. (2007). *Determinación de la actividad antifúngica de extractos vegetales sobre el hongo Mycosphaerella fijiensis Morelet*. Obtenido de Scientia et Technica, 13(33), 425-426: <http://revistas.utp.edu.co/index.php/revistaciencia/article/view/6061/3311>
  
23. Osorio, J. (2014). *Estudio de asociación entre respuesta de resistencia a Fusarium oxysporum y marcadores moleculares en una colección de germoplasma de uchuva (Physalis peruviana L.)*. (Tesis MSc.). Obtenido de Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias: Colombia: <http://www.bdigital.unal.edu.co/42959/1/07790922.2014.pdf>

24. Osorio-Hernández, E., Ventura-Sobrevilla, J. M., Flores-Dávila, M., Rodríguez-Herrera, F. R., Hernández-Castillo, F. D., & Aguilar, C. N. (2009). *Efectividad biológica de extractos polifenólicos contra bacterias fitopatógenas*. Obtenido de Universidad Autónoma de Coahuila, Coordinación General de Estudios de Posgrado de Investigación: <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/Documentos/AQM/AQM2/EFE CTIVIDAD%20BIOL%C3%93GICA%20DE%20EXTRACTOS%20POLIFEN% C3%93LICOS%20CONTRA%20BACTERIAS%20FITOPAT%C3%93GENAS .pdf>
25. Pouza, L., Chalfoun, S., Oliveira, D., & Santos Botelho, D. (2011). *Avaliacao da actividade antifungica de extratos vegetais contra o fungo Aspergillus ochraceus Wilhem. em Coffea arabica L.* Obtenido de VI Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil: <http://www.sbicafe.ufv.br/bitstream/handle/123456789/2599/410.pdf?sequen ce=1&isAllowed=y>
26. Quevedo, O., Crozzoli, R., & Perichi, G. (2010). *Extractos acuosos y etanólicos de plantas para el control de Meloidogyne enterolobii, (Nematoda: Tylenchida)*. Obtenido de Fitopatología Venezolana, 23(2), 45-53: <http://www.sovefit.com.ve/boletines/23-2/DOC4.pdf>
27. Quezada García, M. W., & Rivera Martinez, M. d. (2015). *Determinación de fitoconstituyentes de la raíz y hojas de mimosa albida procedentes de Conache – La Libertad. (Tesis Lic. Quim. Farm.)*. Obtenido de Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Farmacia y Bioquímica: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/3689>
28. Reyes, C., Martínez, D., Morales, P., Sobal, M., Escudero, A., & Ávila, J. (2014). *Efecto del extracto de ruda (Ruta graveolens) en el crecimiento micelial de Trichoderma*. Obtenido de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342014000800008&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342014000800008&script=sci_arttext&tlng=pt)
29. Rodríguez, T., Ramírez, M. B., & Rivero, D. (2012). *Actividad antifúngica de extractos de Acacia farnesiana sobre el crecimiento in vitro de Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*. Obtenido de Revista Científica UDO Agrícola, 12(1), 91-96: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4277990>

30. Rojas, S., & Vibrans, H. (2011). *Emilia fosbergii* Nicolson. Obtenido de México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO):<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/emilia-fosbergii/fichas/ficha.htm>
31. Rojas, S., Vibrans, H., & Lezama, T. (2011). *Heliotropium angiospermum* Murray. Obtenido de México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad(CONABIO):<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/boraginaceae/heliotropium-angiospermum/fichas/ficha.htm>
32. Sabando, M. (2015). *Aplicación de los aceites esenciales Mentha spicata y Matricaria chamomilla en la inhibición de hongos en dos variedades de tomate*. Obtenido de Quevedo: UTEQ: <http://mail.uteq.edu.ec/bitstream/43000/622/1/T-UTEQ-0051.pdf>
33. Sabillong, A., & Bustamante, M. (1995). *Evaluación de extractos acuosos de malezas para el control de Spodoptera frugiperda J. E. Smith*. Obtenido de CEIBA, 36(2), 197-205: <http://revistas.zamorano.edu/index.php/CEIBA/article/view/296/289>
34. Vásquez, M., Aragón, A., Bobbins, M., Castillo, D., Nava, L., & Pérez, B. (2016). *Control de Sphenarium purpuracens con Bauveria bassiana y extractos vegetales en amaranto Amaranthus hypocondriacus L*. Obtenido de México: INIFAP:<http://cienciasagricolas.inifap.gob.mx/editorial/index.php/Agricolas/article/view/4796/3955>
35. Villa, A., Pérez, R., Morales, A., Basurto, M., Soto, J., & Martínez, E. (2014). *Situación actual en el control de Fusarium spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales*. Obtenido de Acta Agronómica, 64(2), 194-205:[https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta\\_agronomica/article/view/43358/50649](https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/43358/50649)
36. Zaconeta, F. (2000). *Identificación de plantas locales como indicadores de calidad de suelos en parcelas agrícolas, en la microcuenca Luquigüe, Yoro, Honduras. (Tesis Ing. Agr.)*. Obtenido de Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano: Honduras: <http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/2891/1/T1128.pdf>

### **3.2.2 Implementación de manual de procedimientos operativos estandarizados (SOP) para muestreo de agua con fines de riego agrícola**

#### **3.2.2.1 Objetivo**

- Definir una metodología de muestreo de agua con fines de riego agrícola.

#### **3.2.2.2 Metodología**

Para la implementación de la metodología de muestreo de agua para el SOP se hizo la recopilación de literatura relacionada en general con muestreo y se buscó literatura específica, que ayudara a tener los pasos importantes para la toma de una muestra representativa, con el propósito de obtener conocimientos sobre este.

La bibliografía se buscó de fuentes que fueran verídicas en el buscador de google académico y DOAJ (Directory of Open Access Journals), tratando de depurar información y seleccionar las opciones que se adaptaran al ámbito de la empresa. También se hicieron aportes por la autora de este documento experiencias anteriores que ella había obtenido.

Se tomaron en cuenta metodologías ya establecidas que pudieran enriquecer el documento propuesto a la empresa.

#### **3.2.2.3 Para el cumplimiento del objetivo planteado se presentan los siguientes resultados**

Primero se deben tomar en cuenta los las siguientes consideraciones; parámetros, características y conservación de muestras de agua, las cuales se muestran en el cuadro 10 para obtener una muestra de agua confiable según Arce & Carderón (s.f.).



Cuadro 20. Parámetros necesarios para la obtención de una buena muestra de riego.

Parámetro	Recipiente	Enjuague antes de tomar la muestra	Volumen mínimo (L)	Preservación	Tiempo máximo para el análisis*
Materia flotante	Plástico	2- 3 veces	3	4°C	24 hrs.
Sólidos sedimentables	Plástico	2- 3 veces	1	4°C	24 hrs.
Sólidos suspendidos totales	Plástico	2- 3 veces	1	4°C	7 días
Fósforo total	Plástico	2- 3 veces	1	4°C	28 días
Nitrógeno total	Plástico	2- 3 veces	1	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pH<2 4°C	28 días
Métales	Plástico	2- 3 veces	1	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pH<2 4°C	6 meses
Cianuros	Plástico	2- 3 veces	1	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pH>12 4°C	24 hrs.

\*es recomendable que el tiempo máximo para su análisis sea 24 hrs, y ser transportada a una temperatura de aproximadamente 4°C.

### Recomendaciones para el muestreo de agua para riego agrícola

Para el muestreo es preferible la utilización de botellas de plástico, para el caso de un análisis químico general es posible utilizar botellas de vidrio o de plástico, aunque lo recomendado son botellas plásticas, ya que ciertos tipos de botellas de vidrio pueden aportar boro a la muestra (Mujeriego, 1990).

Si en caso se desean preservar las soluciones debe ser con ácido sulfúrico, ácido clorhídrico, hidróxido de sodio y formaldehído.

Se recomienda que la muestra sea trasladada al laboratorio donde la analizaran en dentro de las primeras 24 hrs. de haber sido tomada.

#### A. Materiales para el muestreo

- Bolsas de plástico
- Botellas

- Libreta de campo
- Etiquetas



Figura 57. Materiales para el muestreo de agua.

Opcional Arce & Carderón, (s.f.):

- Medidor de pH
- GPS
- Conductivímetro
- Termómetro
- Agua destilada

## **B. Pasos de Muestreo**

- a) Se identifican las fuentes de agua que se muestrearán, no utilizar fuentes de agua que estén estancadas, en este caso no tomar muestras de agua del reservorio, a menos que se quiera obtener un análisis de agua para este.
- b) Se utiliza el recipiente para la toma de la muestra pueden ser una botella de plástico o vidrio (limpias) o bolsas de plástico, antes de proceder a la toma de la muestra, las botellas deben enjuagarse al menos tres veces con el agua que se desea muestrear.

- c) Si el objetivo del muestreo es la determinación de microelementos, como el cobre (Cu), es necesario la adición de ácido después del muestreo, por lo que se necesita obtener dos muestras debido a que la segunda serviría para determinar bicarbonatos, carbonatos, nitrógeno y pH (Mujeriego, 1990).
- d) Se rotula la muestra y agrega a una hielera con una temperatura de 4°C, para la cual se recomienda tener un termómetro con una escala de -5°C-10°C, para su posterior transporte.
- e) Si son varias muestras que se tengan se debe llevar un registro en una libreta de campo.



Figura 58. Diagrama básico de la metodología de muestreo de agua con fines de riego.

Ejemplo de etiqueta para la identificación de la muestra de agua (figura 20).

<b>“Finca Buenos Aires”</b>	
Fecha:	Hora:
Dirección:	
Punto de muestreo:	
Caudal:	
Temperatura:	
Cantidad de muestra (ml):	
Responsable:	
No. De muestra o Id:	

Figura 59. Ejemplo de etiqueta de identificación de muestras de agua.

Como no se debe tener una muestra de agua (figura 21).



Figura 60. Muestra de agua, tomada de forma incorrecta.

#### 3.2.2.4 Evaluación

Se realizó una búsqueda de información sobre muestreos de agua donde se colecto dicha información y se obtuvo una metodología para la obtención de una muestra de agua y los parámetros que se toman en cuenta.

#### 3.2.2.5 Bibliografía

1. Arce, A. L., & Carderón, C. T. (s.f.). *Serie autodidáctica de medición de la calidad del agua*. Mexico: La gerencia de recaudación y control de la subdirección General de Administración del agua, Comisión Nacional del Agua.
2. Mujeriego, R. (1990). *Riego con agua residual municipal regenerada, Manual práctico*. Catalunya, Barcelona, España: Generalitat de Catalunya.

### **3.2.3 Implementación de manual de procedimientos operativos estandarizados (SOP) para muestreo foliar**

#### **3.2.3.1 Objetivo**

- Implementar la metodología para muestreo foliar de *Stevia rebaudina* Bertoni en la finca “Buenos aires”.

#### **3.2.3.2 Metodología**

Se elaboró un manual de procedimiento que contiene los pasos necesarios para obtener una muestra representativa foliar para lo cual se hizo la recopilación de literatura relacionada en general con muestreo y se buscó literatura específica.

Se utilizaron fuentes confiables en el buscador de google académico y DOAJ, tratando de depurar información y seleccionar las opciones que se adaptaran al ámbito de la empresa.

Se tomaron fotos para mostrar el procedimiento correcto según la literatura citada, así como también se colocaron aspectos a tomar en cuenta para la extracción de una buena muestra foliar debido a que permitirá obtener datos necesarios y representativos para la finca.

#### **3.2.3.3 Para el cumplimiento del objetivo planteado se presentan los siguientes resultados**

Recomendaciones generales del muestreo foliar

- a) La muestra compuesta debe ser representativa de un área homogénea.
- b) Las muestras no se deben obtener donde no haya mucho encharcamiento, plantas enfermas, con aspectos diferentes al de la mayoría, entre otros.
- c) Si la variabilidad de fecha de siembra o edad de las plantas es de mínimo una semana, se deben tomar muestras separadas de cada lote sembrado, se acepta un mínimo de variabilidad de edad como máximo de tres días, para considerar homogéneo ese cultivar y así hacer inferencias sobre una sola muestra.
- d) Registrar siempre la fecha de muestreo.
- e) Conocer el estado fenológico de la planta.
- f) Se deben identificar las plantas muestreadas, para su posterior muestreo y así llevar un historial de las mismas.

### 3.2.3.4 Metodología de muestreo foliar en *Stevia rebaudiana* Bertoni

- a) Determinación o diagnóstico del área a muestrear, observando si dentro del cultivar existen áreas heterogéneas, por ejemplo: zonas con amarillamiento en las plantas, marchitez, coloración anómala en el tejido filiar de la planta, entre otros. Si el área es heterogénea siga con el inciso b), si no pase al inciso c).
- b) Si el área es heterogénea, realizar un muestreo estratificado tomando una muestra compuesta de las áreas que según el diagnóstico realizado sean representativas o sea de los estratos formados.
- c) Si el área a muestrear es homogénea y no mayor a 2 ha, realizar una muestreo aleatorio simple o seguir los patrones de la figura 1, para la obtención de una sola muestra compuesta, la cual se debe componer de 20 a 25 submuestras (SUSTRAI, 1996).



Figura 61. Patrón de muestreo.

- d) El estado fisiológico óptimo para muestrear es al inicio de la floración, pero se pueden tomar las muestras antes que la planta sea cosechada (figura 62).



Figura 62. a) Estado vegetativo b) Estado vegetativo antes de cosecha, adecuado para muestreo; c) Estado iniciación floral, óptimo para muestreo; d) planta en plena floración, aceptable para muestreo; e) Planta en floración y formación de fruto.

- e) Toma de las submuestras, si sus surcos son de 100 metros de largo y 1.80 m de ancho se tienen aproximadamente 56 surcos/ha<sup>1</sup>, se pueden tomar 10 submuestras<sup>1</sup>, seleccionando una planta cada 5 surcos.
- f) Teniendo la planta seleccionada al azar o siguiendo el patrón anterior, se seleccionan las ramas que estén señalando los puntos cardinales (N, S, E, O) como lo señala la figura 63.

<sup>1</sup> Submuestra: Es este caso una submuestra es una planta de la cual se obtendrán tres o cuatro hojas.





Figura 63. Toma de muestra, con referencia a los puntos cardinales

- g) Se selecciona el tercer o cuarto nudo o tercera o cuarta hoja del ápice hacia debajo de las ramas seleccionadas tomando una hoja de cada rama, para lo cual tendrá 3 o 4 hojas de cada planta seleccionada o submuestra.

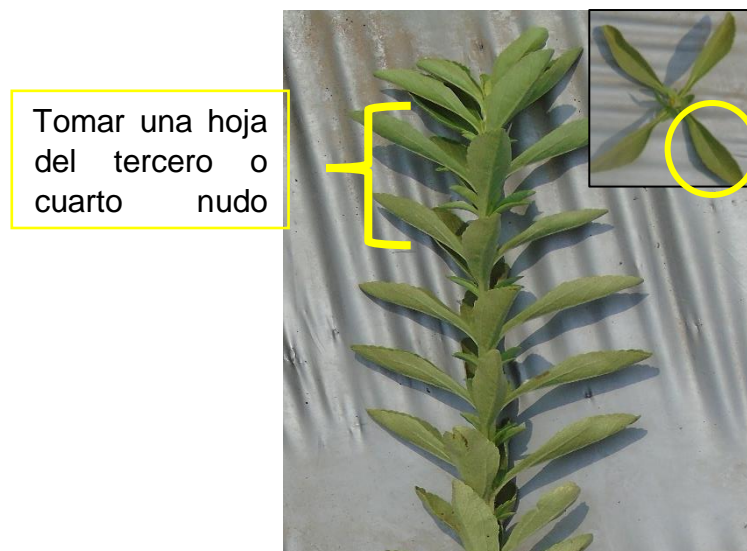


Figura 64. Toma del follaje para la submuestra.

- h) La muestra compuesta debe contener las hojas colectadas de cada submuestra, la cual debe estar lista para echarla a la bolsa perforada (plástico o papel), como en la figura 65.



Fuente: Sanbadell, 2014.

Figura 65. Empaque para el transporte de muestra foliares

- f) Se identifica la muestra para ser llevada al laboratorio donde realizará el análisis.

Nombre de la empresa o finca:	
Dirección:	
Área muestreada:	
Responsables:	
Muestreador(a):	
Análisis a realizar:	
Estado fenológico de la planta:	
Fecha:	No. De muestra o Id:
Nota*:	

Figura 66. Ejemplo de identificación para el muestreo.

\*En esta se pondrá la edad de la planta, aplicaciones realizadas de fertilizantes foliares, aplicación de algún fungicida que tenga nutrimentos.

- g) La conservación de la muestra debe ser en un refrigerador, cuando esta no pueda ser transportada al laboratorio el mismo día que se extrajo o secar las hojas para que no se oxiden o fermenten.

### 3.2.3.5 Evaluación

Se realizó una búsqueda de información sobre muestreos foliares donde se colectó dicha información y se obtuvo una metodología que le permitiera a la empresa tener una base para la toma de dichas muestras y que estas fueran representativas.

### 3.2.3.6 Bibliografía

1. Aizpurua Intxausti, A., Besga Salazar, G., Domingo y Uriarte, M., & Amenabar Arzuaga, R. (1996). *Análisis foliar, Normas para el muestreo de árboles frutales de hueso y pepita*. Obtenido de *Sustrai*, 40(1), 36-38:  
[http://www.fraisoro.net/FraisoroAtariaDoku/40\\_36\\_38.pdf](http://www.fraisoro.net/FraisoroAtariaDoku/40_36_38.pdf)
2. Bertsch, F. (2007). *Muestreo foliar*. Obtenido de  
<http://www.cia.ucr.ac.cr/pdf/LSF/MuestreoFoliar.pdf>
3. SANBADELL. (2014). *Plástico macro y micro-perforado*. Obtenido de  
<http://sabadellchile.cl/plastico-macro-perforado-y-microperforado/>